FRESENIUS'
ZEITSCHRIFT
FÜR ANALYTISCHE
CHEMIE

BEGRÜNDET VON REMIGIUS FRESENIUS

HERAUSGEGEBEN VON

W. FRESENIUS UND A. KURTENACKER

145. BAND
FÜNFTES HEFT
MIT 6 ABBILDUNGEN IM TEXT

SPRINGER-VERLAG BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG
J. F. BERGMANN · MÜNCHEN
1955

Z. anal. Chem.

Fresenius' Zeitschrift für analytische Chemie.

Begründet 1862 und herausgegeben bis Band 20 (1881) von *C. Remigius Fresenius*, bis Band 36 (1897) von *C. Remigius* und *Heinrich Fresenius*, Band 37—58 herausgegeben von *Heinrich* und *Wilhelm Fresenius* und *Ernst Hinz*, Band 59 (1920) bis Band 105 von *Wilhelm Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 105 (1936) von *Remigius* und *Ludwig Fresenius*, Band 106—127 (1944) von *Remigius Fresenius*, Band 128 (1948) herausgegeben von *A. Kurtenacker* und ab Band 129 (1949) von *W. Fresenius* und *A. Kurtenacker*.

Bis Band 58 (1919) Wiesbaden, C. W. Kreidel, Band 59—62 (1922) Wiesbaden, C. W. Kreidel und München, J. F. Bergmann, Band 53—127 (1944) München, J. F. Bergmann, ab Band 128 (1948) München, Bergmann und Berlin, Springer.

Die **„Zeitschrift für analytische Chemie"** erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials in Heften, die zu Bänden vereinigt werden. Der Preis des Bandes beträgt DM 54,—. Sie bringt als „Originalabhandlungen" selbständige Untersuchungen aus allen Gebieten der analytischen Chemie.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskripts und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht. Grundsätzlich dürfen nur Arbeiten eingereicht werden, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Es ist ferner ohne ausdrückliche Genehmigung des Verlages nicht gestattet, photographische Vervielfältigungen, Mikrofilme, Mikrophote u. ä. von den Zeitschriftenheften, von einzelnen Beiträgen oder von Teilen daraus herzustellen.

Der „Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie" enthält, zum Teil in Form von Sammelberichten, kritische Referate über die auf den einzelnen Gebieten an anderer Stelle veröffentlichten Arbeiten über analytische Chemie.

Originalarbeiten und alle sie betreffenden Zuschriften sind zu richten an die

Redaktion der Zeitschrift für analytische Chemie,
Wiesbaden, Kapellenstraße 11/15.

Für Originalabhandlungen wird ein Unkostenersatz von DM 32,— je Druckbogen, jedoch nicht mehr als 1½ Druckbogen für einen Beitrag vergütet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihrer Arbeit zusammen 40 Sonderdrucke.

Auf möglichst rasche Veröffentlichung der eingelaufenen Arbeiten wird besonderer Wert gelegt.

J. F. Bergmann
München 27, Trogerstraße 56
Fernsprecher 40535

Springer-Verlag
Heidelberg, Neuenheimer Landstraße 24
Fernsprecher 2440
Berlin W 35, Reichpietschufer 20
Fernsprecher 249251

Band 145 — Heft 5

Inhaltsverzeichnis.

Originalabhandlungen.

Seite

Mukherjee, A. K., Hydroxyaldimines and Hydroxyketimines as Organic Precipitants 321

Klement, R., und **H. Sandmann,** Trennung des Galliums, Indiums und Germaniums von anderen Metallen durch Ionenaustausch 325

Richter, J., Beitrag zur photometrischen Bestimmung von Adrenalin und anderen Brenzcatechinabkömmlingen in Arzneifertigwaren. Mit 1 Textabbildung 334

Medicus, K., Schnellbestimmung der Kieselsäure im Bauxit nach der Perchlorsäuremethode 337

Wickert, K., und **E. Jaap,** Die Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes mit Leukindigocarmin und allgemeine Betrachtungen zu den O_2-Bestimmungen 338

Deshmukh, G. S., und **M. K. Joshi,** Iodine Monochloride End Point in the Oxydation of Thiocyanate by Permanganate. Determination of Cerium. 345

Nielsch, W., und **L. Giefer,** Zur photometrischen Bestimmung von Tellur mit Thioharnstoff. Ausführung in salpetersaurer Lösung 347

Die Wiedergabe von Gebrauchsnamen, Handelsnamen, Warenbezeichnungen usw. in dieser Zeitschrift berechtigt auch ohne besondere Kennzeichnung nicht zu der Annahme, daß solche Namen im Sinn der Warenzeichen- und Warenschutz-Gesetzgebung als frei zu betrachten wären und daher von jedermann benutzt werden dürften.

Department of Inorganic Chemistry, Indian Association for the Cultivation of Science, Calcutta-32 (India).

Hydroxyaldimines and Hydroxyketimines as Organic Precipitants.

By

AJIT KUMAR MUKHERJEE.

(Eingegangen am 18. Januar 1955.)

PFEIFFER and co-workers[3] in a series of papers have studied the preparation, properties and constitution of a large number of Metal Chelate complexes of oxyaldimines and oxyketimines with spiral like or polycylic rings. In these, various o-oxyaldehydes and diketones were made to condense with monoamines, diamines and even amides and esters of some amino-acids in presence of metallic salts. They also studied the inner-metallic complex salts of salicylaldimines. DUKE[2] studied the quantitative reactions of metallic ions with salicylaldehyde and its 5-bromo, 5-nitro, and 3,5-dibromo derivatives in ammonia and methylamine solution. They also used salicylimines (salicylaldehyde-ammonia, SCHIFFS base) for the quantitative precipitation of nickel and copper and for the estimation of copper in Brass or Bronze.

The present work deals with quantitative and qualitative reactions of different metallic ions with *Resorcylaldehyde*, *β-Hydroxy-α-naphthaldehyde* and *o-Hydroxy-acetophenone* in ammonia and in methylamine solution. It has, however, been observed that resorcylimines and o-hydroxy acetophenonimine (ketone-ammonia) could not be used for the quantitative estimation of copper and nickel. o-Hydroxyaldimines and o-Hydroxy-acetophenonimine (ketone-methylamine), however, give quantitative precipitation of copper and nickel in aqueous solution. In all cases the imine precipitates are unstable in acidic solution. They are insoluble in water and in high concentration of the ammonia or the amine.

Experimental.

Reagents. Resorcylaldehyde, obtained from B.D.H., was recrystallised (m.p. 135—136° C) and was used in the investigation. *β*-Hydroxynaphthaldehyde and o-Hydroxyacetophenone were prepared according to BEILSTEIN[1].

Immine Solutions. Resorcylimines, *β*-Hydroxynaphthaldimines and o-Hydroxy-acetophenonimines were prepared easily following the same method as followed by DUKE[2] in the case of Salicylimines.

Inorganic Ions Solutions. Stock solutions of known concentration were prepared from G.R. quality (E. Merck) reagents. The stock solutions were diluted to contain 0.5 to 1 mg. per ml. for making the qualitative tests.

Procedure for Qualitative Reactions with different Metallic Ions. About 2 ml. of the stock solution was taken and diluted to 5 ml. with distilled water and approximately 1—2 ml. of the freshly prepared reagent was added. After allowing 2—5 minutes for reaction the test tubes (with colour or precipitates) were usually examined in white

Table 1. *Reaction with Resorcylimines.*

Ions	Resorcylaldehyde and NH_3	Resorcylaldehyde and CH_3NH_2
Cu^{++}	Green colour*	Greenish-blue ppt.
Ni^{++}	Greenish-yellow ppt.	Light green ppt.
Co^{++}	Red-brown colour.	Red-brown colour.
Fe^{++}	Orange-red colour	Orange-red colour.
Fe^{+++}	Blood-red colour.	,, ,,
Pd^{++}	X	Pink colour.
Mn^{++}	Light yellow colour.	Brown ppt.
Zn^{++}	X	X
Cd^{++}	X	Yellow colour.
Hg^{++}	X	X
MoO_4^{--} . . .	X	X
VO_3^{-}	X	X
UO_2^{++} . . .	Orange-yellow colour	Orange-yellow colour
Ti^{4+}	X	X

* Colour changes with time, blue, violet and finally a black ppt.
X indicates no reaction.

Table 2. *Reactions with β-Hydroxynaphthaldimines.*

Ions	Aldehyde and NH_3	Aldehyde and CH_3NH_2
Cu^{++}	Greenish-yellow ppt.	Greenish-yellow ppt.
Ni^{++}	Orange-yellow ppt.	Green ppt.
Co^{++}	Red-brown ppt.	Orange-yellow ppt.
Fe^{++}	Red colour.	Orange-red colour.
Fe^{+++} . . .	,,	,,
Pd^{++}	Orange-yellow ppt.	X
Mn^{++}	X	Light brown ppt.
Zn^{++}	X	X
Cd^{++}	X	Light yellow ppt.
Hg^{++}	X	X
MoO_4^{--} . . .	X	X
VO_3^{-}	X	X
UO_2^{++} . . .	Orange yellow ppt.	Light yellow colour.
Ti^{4+}	X	X

X indicates no reaction.

back ground with a narrow beam of light. In each case a blank was also run on distilled water for comparison. A number of metallic ions obtainable in aqueous solutions were examined and the results are summarised in the tables 1—3:

Procedure for the Quantitative Application of Aldimines and Ketimines.

Standard Cu^{++} and Ni^{++} solutions were prepared by dissolving weighed amount of copper chloride (E. Merck-G.R.) copper sulphate (E. Merck-G.R.) and nickel chloride (E. Merck-G.R.) in double distilled water. Nickel was estimated for the

stock solution as nickel dimethylglyoxime and the amount of copper in the stock solution was determined by the usual iodimetric method. All p_H measurements were

Table 3. *Reactions with o-Hydroxyacetophenonimines.*

Ions	Ketone and NH_3	Ketone and CH_3NH_2
Cu^{++}	Greenish-yellow ppt.	Greenish-yellow ppt.
Ni^{++}	,,	Green-yellow ppt.
Co^{++}	Orange-yellow ppt.	Brown-yellow ppt.
Fe^{++}	Red-colour.	Violet-red colour.
Fe^{+++} . . .	,,	,,
Pd^{++}	X	Light yellow ppt.
Mn^{++}	Red brown ppt.	Light brown ppt.
Zn^{++}	X	Light yellow ppt.
Cd^{++}	Light yellow ppt.	,,
Hg^{++}	X	X
MoO_4^{--} . . .	X	X
VO_3^{-}	X	X
UO_2^{++} . . .	Orange yellow colour	Orange yellow colour
Ti^{4+}	X	X

X indicates no reaction.

Table 4. *Use of β-Hydroxynaphthaldehydimines for the Estimation of Copper.*

A. *β-Hydroxynaphthaldehyde-ammonia Reagent*.*

'Cu' taken in gm.	Wt. of the ppt. in gm.	'Cu' found in gm.
0.1258	0.7948	0.1252
0.1045	0.6602	0.1040
0.0522	0.3308	0.0520
0.0260	0.1618	0.0255
0.0130	0.0825	0.0130

* p_H of the solution: 4.8—7.5.
Conversion Factor: 0.1575.

B. *β-Hydroxynaphthaldehyde methylamine Reagent*.*

'Cu' taken in gm.	Wt. of the ppt. in gm.	'Cu' found in gm.
0.1062	0.7196	0.1060
0.0796	0.5376	0.0792
0.0532	0.3556	0.0524
0.0398	0.2114	0.0392
0.0265	0.1765	0.0260

* p_H of the solution: 4.5—8.
Conversion Factor: 0.1473.

Table 5. *Use of β-Hydroxynaphthaldehydimines for the Estimation of Nickel.*

A. *β-Hydroxynaphthaldehyde-ammonia Reagent*.*

'Ni' taken in gm.	Wt. of the ppt. in gm.	'Ni' found in gm.
0.1064	0.7230	0.1060
0.0798	0.5380	0.0792
0.0532	0.3586	0.0528
0.0198	0.1304	0.0192
0.0132	0.0856	0.0126

* p_H of the solution: 6.5—9.8.
Conversion Factor: 0.1472.

B. *β-Hydroxynaphthaldehyde-methylamine Reagent*.*

'Ni' taken in gm.	Wt. of the ppt. in gm.	'Ni' found in gm.
0.1055	0.7672	0.1052
0.0792	0.5756	0.0790
0.0660	0.4796	0.0654
0.0264	0.1920	0.0260
0.0132	0.0956	0.0124

* p_H of the solution: 7—9.5.
Conversion Factor: 0.1375.

made in a Cambridge p_H meter (Bench Type). A known amount of stock solution was taken in each case in a 250 ml. Jena beaker and the volume was made upto 125 to 150 ml. and to that excess of the freshly prepared reagent was added followed by ammonia (5%) solution. The resulting solution was slightly warmed on the water bath and kept for about half an hour. The precipitates were filtered through glass Gooch crucibles (Jena no. 4), washed several times with cold distilled water and finally weighed after being dried to constant weight between 100—105° C. Representative results with the use of different reagents are shown in the tables 4—7:

Table 6. *Use of o-Hydroxyacetophenone-methylamine Reagent for the Estimation of Copper*.*

'Cu' taken in gm.	Wt. of the ppt. in gm.	'Cu' found in gm.
0.1045	0.5892	0.1042
0.0784	0.4412	0.0780
0.0522	0.2928	0.0518
0.0390	0.2172	0.0384
0.0261	0.1425	0.0252

* p_H of the solution: 5.5—8.
Conversion Factor: 0.1768.

Table 7. *Use of o-Hydroxyacetophenone-methylamine Reagent for the Estimation of Nickel*.*

'Ni' taken in gm.	Wt. of the ppt. in gm.	'Ni' found in gm.
0.1018	0.6130	0.1014
0.0764	0.4568	0.0756
0.0508	0.3035	0.0502
0.0254	0.1498	0.0248
0.0126	0.0714	0.0118

* p_H of the solution: 7.5—10.
Conversion Factor: 0.1654.

Summary.

The paper introduces several o-hydroxyaldimines and o-hydroxyketimines as new organic precipitants for different metallic ions in aqueous solution. Careful studies of the reaction of these ligands with different metallic ions show that these are well suited for the detection of small amounts of several metallic ions in solutions. Like salicylimine, β-hydroxynaphthaldimines and o-hydroxyacetophenonimines are suitable for the estimation of copper and nickel in aqueous solution.

My sincere thanks are due to Professor P. RAY and Dr. P. C. BANERJEE, Indian Association for Cultivation of Science, Calcutta (India), for their kind interest and helpful suggestions.

Bibliography.

[1] BEILSTEIN, F.: Handbuch der Organischen Chemie. — [2] DUKE, F. R.: Ind. Engng. Chem. anal. Edit. **16**, 750 (1944). — [3] PFEIFFER, P. (et. al.): J. prakt. Chem. **129**, 163 (1931).—Liebigs Ann. Chem. **503**, 84 (1933). —J. prakt. Chem. **145**, 243 (1936); **151**, 145 (1938); **155**, 77 (1940); **159**, 313 (1942). — Angew. Chem. **53**, 93 (1940).

Dr. AJIT KUMAR MUKHERJEE, Department of Inorganic Chemistry, Indian Association for the Cultivation of Science, Calcutta-32. (India).

Aus dem Institut für anorganische und analytische Chemie
der Phil.-Theol. Hochschule Regensburg.

Trennung des Galliums, Indiums und Germaniums von anderen Metallen durch Ionenaustausch.

Von
ROBERT KLEMENT und HERBERT SANDMANN*.

(Eingegangen am 24. Januar 1955.)

Die bisher bekannten Trennungsverfahren für Gallium, Indium und Germanium sind schwierig ausführbar und zeitraubend[3]. Dies gilt besonders für die Trennung des Galliums von Indium. Die handelsüblichen Metalle selber sind besonders durch Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen verunreinigt. Nach den bekannten Gesetzmäßigkeiten des Ionenaustausches an Kationenaustauschern[7] sollte es bei Vorliegen der gewöhnlich 3wertigen Ionen des Galliums bzw. des Indiums leicht möglich sein, diese von den 2wertigen Ionen des Bleis, Kupfers und Zinks dadurch abzutrennen, daß jene von dem Austauscher fester gebunden werden als diese. Im Falle des Antimons bzw. des 3wertigen Eisens könnten jedoch Schwierigkeiten auftreten. Die Bindung des Antimons in dessen 3wertiger Form an den Austauscher ist aber wegen der Notwendigkeit, zur Vermeidung der Hydrolyse und der Bildung unlöslicher Niederschläge in ziemlich stark saurer Lösung zu arbeiten, recht gering, aber es könnte wegen der stark sauren Reaktion der Lösung auch die Bindung der anderen in Rede stehenden Kationen erschwert oder unmöglich sein. Unter den Bedingungen der hier ausgeführten Versuche ist es möglich gewesen, derartige Schwierigkeiten glatt zu umgehen. Bei 3wertigem Eisen und Indium sind die Haftfestigkeiten so weit voneinander verschieden, daß keine Komplikationen eintreten. Im Falle der Trennung des Galliums von Eisen ist es aber notwendig, daß dieses nur in zweiwertiger Form vorliegt. — Eine wäßrige Lösung von Germaniumdioxyd enthält nur Germanatanionen, die von einem Kationenaustauscher nicht gebunden werden. Kationische Beimengungen lassen sich also ohne weiteres mit dessen Hilfe abtrennen.

Im Falle des Indiums hat es sich gezeigt, daß dieses sich ganz anders verhält als es von einem 3wertigen Ion zu erwarten wäre. Indium läßt sich schon durch ziemlich verdünnte, z. B. 0,4 n Salzsäure quantitativ vom Kationenaustauscher ablösen. Dies hängt offenbar mit der Neigung des Indiums, in salzsaurer Lösung anionische Chlorokomplexe, z. B.

* Aus der Diplomarbeit Universität München, Januar 1955.

$[InCl_4]^-$ oder $[InCl_6]^{3-}$ zu bilden, zusammen. Das Gleichgewicht $In^{3+} + 4\,Cl^- \rightleftharpoons [InCl_4]^-$ liegt selbst in verdünnter salzsaurer Lösung offensichtlich weitgehend auf der rechten Seite. Infolgedessen werden die am Austauscher haftenden Indium-Ionen durch Salzsäure leicht abgelöst und durch Wasserstoff-Ionen ersetzt. Mit Salpetersäure bzw. mit Schwefelsäure verhält sich Indium praktisch normal, d. h. es wird erst durch etwa 1 n Säure eluiert. Durch das inverse Verhalten des Indiums in Salzsäure haben sich nun besonders einfache und wirksame Trennungsmöglichkeiten ergeben, weil das Indium sich *vor* den 2wertigen Ionen des Bleis, Kupfers und Zinks vom Austauscher ablösen läßt. Da Gallium als 3wertiges Ion sich normal verhält, ergibt sich auch eine einfache und wirksame Trennung dieses Metalls von Indium. Es ist allerdings nötig, bei Anwesenheit von Blei, Zink und Gallium auf einer langen Säule, z. B. von 100 cm Länge zu arbeiten, weil sonst die Trennung nicht sauber verläuft.

Eine Anwendung von Ionenaustauschern zur Analyse von Indium enthaltenden Mineralien haben kürzlich Jentzsch u. Mitarb.[4] mitgeteilt. Sie gründen ihre Arbeitsweise auf die eben erwähnte Neigung des Indiums, in salzsaurer Lösung komplexe Chloroanionen zu bilden, und sie binden diese an einen Anionenaustauscher. Ihre Austauschertrennung bezieht sich auf die Elemente Indium, Zinn(IV), Arsen, Eisen, Mangan und Aluminium.

Blasius u. Negwer[1] haben vor kurzem eine Trennung des Galliums von Eisen mittels Anionenaustauschers beschrieben. Sie binden beide Elemente in Form ihrer anionischen Oxalatkomplexe an den stark basischen Anionenaustauscher Permutit ES, der in der Nitratform vorliegt. Anschließend wird das Gallium mit 1 n Natronlauge eluiert. Das Eisen wird dann mit Salpetersäure ausgewaschen. Ob dieses Verfahren für gleichzeitig anwesendes Antimon, Kupfer und Zink brauchbar ist, geben Blasius u. Negwer nicht an.

Beschreibung der Versuche.

Vorbemerkungen.

Für alle Versuche ist der Kationenaustauscher Dowex 50 in der H-Form (20 bis 50 Maschen) verwendet worden. Einige Proben mit Lewatit S 100 haben ein günstiges Ergebnis gezeigt.

Die *Indium*lösung wird hergestellt, indem 1 g metallisches Indium in 6 ml konz. Salzsäure aufgelöst wird. Diese Lösung wird mit Wasser auf 1 Liter aufgefüllt. — Die *Gallium*lösung wird auf die gleiche Weise bereitet. — Zur Herstellung der *Germanium*lösung werden 1,44 g Germaniumdioxyd in 200 ml heißem Wasser gelöst und diese Lösung wird auf 1 Liter verdünnt. — Die *Blei*- bzw. die *Antimon*lösung wird bereitet, indem Bleichlorid bzw. antimonige Säure mit kaltem Wasser bis zur Sättigung geschüttelt wird. Von ungelösten Anteilen wird abfiltriert. — Die anderen Lösungen werden aus den Metallchloriden hergestellt.

Für die quantitativen Analysen werden die Lösungen nach bekannten Verfahren eingestellt. Hierbei werden Indium und Gallium als Oxinate gravimetrisch bestimmt[2]. Germanium wird als Magnesiumgermanat Mg_2GeO_4 gefällt und als solches ausgewogen[6].

Qualitative Vorversuche.

Für die qualitativen Vorversuche wird eine einfache Austauschersäule[5] mit einer Austauscherschicht von 100 cm Länge und einem inneren Durchmesser von 0,8 cm, die mit einem Überlaufrohr versehen ist, benutzt. Die Lösungen der einzelnen in Tab. 1 angegebenen Kationen werden in üblicher Weise auf die Säule gegeben, und nach dem Auswaschen mit Wasser wird diese mit Salzsäure in den in Tab. 1 verzeichneten Konzentrationen behandelt. Das + bedeutet, daß bei dieser Konzentration das betreffende Kation gerade eluiert wird, während bei — die Konzentration der Salzsäure hierzu nicht ausreicht.

Tabelle 1.

Verhalten der einzelnen Kationen an Dowex 50 in einer 100 cm langen Säule.

Normalität der Salzsäure	0,1	0,2	0,3	0,4	0,5	0,6	0,7	0,8	0,9	1,0	1,3	1,5
In^{3+}	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ga^{3+}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+
Sb^{3+}	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Pb^{2+}	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Cu^{2+}	—	—	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+
Zn^{2+}	—	—	—	—	+	+	+	+	+	+	+	+
Fe^{3+}	—	—	—	—	—	—	—	—	—	+	+	+

— = wird bei der in der obersten Reihe angegebenen Säurekonzentration nicht eluiert.

\+ = wird eluiert.

Bei den qualitativen Versuchen werden Indium als Hydroxyd, Gallium als blauvioletter Niederschlag mit Chinalizarin[8], Germanium als Magnesiumgermanat und die anderen Kationen in bekannter Weise nachgewiesen.

Aus Tab. 1 ist zu entnehmen, daß Indium schon durch 0,4 n Salzsäure *vor* allen anderen hier geprüften Kationen — mit Ausnahme des Antimons eluiert wird, während für Gallium 1,3 n Salzsäure erforderlich ist. Germanium aus der oben erwähnten wäßrigen Lösung von Germaniumdioxyd wird überhaupt nicht gebunden. Das Ergebnis dieser Versuche läßt auf erfolgreiche quantitative Trennungen hoffen.

Mit Hilfe einer kleineren Säule von 25 cm Länge ist noch das Verhalten des Indiums, Kupfers und 3wertigen Eisens gegen Schwefelsäure und gegen Salpetersäure qualitativ geprüft worden. Während Kupfer durch 0,8 n Schwefelsäure bzw. Salpetersäure und Eisen(III) durch 0,9 n Salpetersäure eluiert werden, erscheint das Indium erst bei einer

Normalität = 1 bei beiden Säuren. Die Möglichkeit für quantitative Trennungen ist also erheblich kleiner als bei Salzsäure. Alle quantitativen Trennungen sind deshalb ausschließlich mit Salzsäure ausgeführt worden.

Quantitative Versuche.

1. Trennung des Indiums von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen(III).

Die aus den auf Seite 326 beschriebenen Lösungen der verschiedenen Kationen hergestellte Mischung wird auf die bei den qualitativen Vorversuchen auf Seite 327 beschriebene Säule von 100 cm Länge gebracht. Man läßt die Probelösung mit einer Geschwindigkeit von 10 ml/min

Tabelle 2. *Quantitative Trennung des Indiums von Blei, Kupfer, Zink und Eisen(III) an Dowex 50 in einer 100 cm langen Säule.*

Gegeben mg					Menge des Eluats	Gefunden	Fehler
In	Pb	Cu	Zn	Fe^{III}	ml	mg In	%
150,5	20	20	20	20	1500	150,1	— 0,27
185,0	20	20	20	20	2000	185,0	0
209,0	100	100	20	20	2000	208,0	— 0,48

durchlaufen. Nach dem Auswaschen mit Wasser wird das Indium durch 2000 ml 0,4 n Salzsäure eluiert. Das Eluat wird im Meßkolben aufgefangen; aliquote Teile der zur Marke aufgefüllten Lösung werden zur Bestimmung benutzt. Die anderen Kationen werden durch 2 n Salzsäure eluiert; danach wird die Säule mit Wasser säurefrei gewaschen. Die Ergebnisse einiger Bestimmungen sind in Tab. 2 angeführt.

Tabelle 3. *Quantitative Trennung des Indiums von Kupfer an Dowex 50 in einer 100 cm langen Säule.*

Gegeben		Gefunden	Fehler	Gefunden	Fehler
mg In	mg Cu	mg In	%	mg Cu	%
196,8	48,5	196,4	— 0,20	48,2	— 0,67
196,8	97,0	196,5	— 0,15	96,0	— 1,00
196,8	145,5	196,3	— 0,25	145,0	— 0,34
98,4	48,5	98,2	— 0,22	48,7	+ 0,41
98,4	97,0	98,2	— 0,22	97,2	+ 0,21
98,4	145,5	98,3	— 0,11	145,7	+ 0,14

In einer anderen Versuchsreihe ist außer dem Indium auch das anwesende Kupfer quantitativ bestimmt worden. Hierzu wird bei sonst gleicher Anordnung nach dem Eluieren des Indiums das Kupfer durch 2000 ml 1 n Salzsäure eluiert und in aliquoten Teilen dieser Lösung elektrolytisch bestimmt. Die bei diesen Trennungen erhaltenen Werte sind in Tab. 3 zusammengestellt.

Indium läßt sich auch von Kupfer allein auf einer Säule von nur 30 cm Länge trennen, wie die Zahlenwerte in Tab. 4 erkennen lassen. Bei diesem Versuch ist das Indium durch 0,5 n Salzsäure eluiert worden.

Tabelle 4. *Quantitative Trennung des Indiums von Kupfer an Dowex 50 in einer 30 cm langen Säule.*

Gegeben		Menge des Eluats	Gefunden	Fehler
mg In	mg Cu	ml	mg In	%
50,7	50	400	51,0	+ 0,59
50,7	50	400	50,5	— 0,39
113,5	50	400	113,0	— 0,48
229,7	50	600	230,0	+ 0,13
1135,0	50	800	1138,2	+ 0,28

Bei Anwesenheit von Antimon gelangt dessen größter Teil bereits in den Durchlauf. Der an den Austauscher gebundene Rest läßt sich durch 0,2 n Salzsäure eluieren, und wenn Durchlauf und Eluat vereinigt werden, so wird die gesamte Menge Antimon gefunden. Indium wird nach dem Antimon mit 2000 ml 0,4 n Salzsäure eluiert, und die anderen Elemente werden danach mit stärkerer Salzsäure vom Austauscher abgelöst. Einige Versuchsdaten finden sich in Tab. 5.

Tabelle 5. *Quantitative Trennung des Indiums von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen(III) an Dowex 50 in einer 100 cm langen Säule.*

Gegeben						Gefunden	Fehler	Gefunden	Fehler
mg In	mg Sb	mg Pb	mg Cu	mg Zn	mg Fe	mg In	%	mg Sb	%
209,0	20	20	20	50	50	207,5	— 0,72	—	—
246,0	15,2	20	20	20	20	245,5	— 0,24	15,0	— 1,3

Um zu prüfen, ob die durch Ionenaustausch gereinigte Indiumlösung völlig frei von den ursprünglich beigemengten Elementen ist, wird Indiumhydroxyd gefällt und spektralanalytisch untersucht. Hierbei hat es sich als durchaus notwendig erwiesen, die Fällung in Polystyrolgefäßen durch Einleiten von gasförmigem Ammoniak durchzuführen. Das gefällte, abfiltrierte, ausgewaschene und getrocknete Indiumhydroxyd wird in die 5 mm tiefe und 0,7 mm breite Bohrung der unteren Spektralkohle (normal 5 C, Conradty) gut eingestopft. Die Aufnahme erfolgt mit dem Zeiss Q 12-Spektrographen (Anregung F F 4 3/50 1/10 L, Spalt 10 μ, Zwischenabbildung 2800 A, Zwischenblende 0, Spaltblende: Filter 100—20—4%, Elektrodenabstand 2 mm, Perutz Spektralblau-Platte 450, Vorfunken: 30 sec, bevor das Indiumhydroxyd in die Kohle gestopft wird, Belichtung 90 sec ohne Vorfunkzeit). Die Empfindlichkeit, bezogen auf Kupfer, erreicht den Wert von 0,0001%. Indiumhydroxyd aus den in Tab. 2, Seite 328, angeführten Versuchen, gewonnen aus aliquoten Teilen des Eluates mit 0,4 n Salzsäure und unter den oben

genannten Bedingungen gefällt, ist *völlig* spektralrein. Fällt man in Glasgefäßen, so schleppt man aus diesem Material Calcium, Magnesium und Silicium ein.

Zusammenfassend kann gesagt werden, daß es möglich ist, Indium von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen(III) durch Ionenaustausch schnell und auf einfache Weise quantitativ zu trennen und hierbei spektralreines Indiumhydroxyd zu gewinnen.

2. Trennung des Galliums von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen.

Wie aus den Angaben in Tab. 1, Seite 327, zu entnehmen ist, muß es ohne weiteres möglich sein, Gallium von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und auch von Indium durch Ionenaustausch dadurch zu trennen, daß nach dem Eluieren der Beimengungen und des Indiums mit Salzsäure von der Normalität < 1 das Gallium durch 1,3 n Salzsäure vom Austauscher abgelöst wird. Bei Vorliegen von 3wertigem Eisen ist jedoch damit zu rechnen, daß die Trennung unvollkommen sein wird. Das ist auch wirklich der Fall. Eine Trennung des Galliums von Eisen läßt sich aber am Austauscher ohne weiteres durchführen, wenn das Eisen in der Oxydationsstufe 2 vorliegt. Dann wird das 2wertige Eisen ebenfalls durch schwächere Salzsäure als 1,3 n mit den anderen Beimengungen *vor* dem Gallium quantitativ eluiert. Um das Eisen in den 2wertigen Zustand zu bringen, behandelt man die schwach salzsaure Probelösung am besten mit Schwefeldioxyd, falls kein oder nur sehr wenig Blei vorhanden ist. Andernfalls müßte ausfallendes Bleisulfat vor dem Austauschverfahren abfiltriert werden. Der zum Eluieren verwendeten Salzsäure wird etwas Schwefeldioxyd beigemengt, damit die Gewähr gegeben ist, daß während des Eluierens keine Oxydation von 2wertigem zu 3wertigem Eisen eintritt.

Die bei den Trennungen des Galliums von anderen Elementen erzielten Ergebnisse sind in Tab. 6 zusammengestellt. Sie lassen erkennen, daß in allen Fällen gute Werte erhalten werden.

3. Trennung des Galliums von Indium.

Nach den in Tab. 1, Seite 327, angeführten Befunden dürfte es möglich sein, Indium von Gallium am Austauscher dadurch zu trennen, daß zuerst Indium durch 0,4 n Salzsäure eluiert und danach Gallium mittels 1,3 n Salzsäure abgelöst wird. Diese Vermutung hat sich völlig bewahrheitet, wie aus den Werten der Tab. 7 (S. 332) zu ersehen ist. Die Gallium und Indium enthaltende Lösung wird auf die Säule gegeben und mit einer Geschwindigkeit von 10 ml/min durchlaufen gelassen. Nach dem Auswaschen mit etwa 100 ml destilliertem Wasser wird das Indium mit 2000 ml 0,4 n Salzsäure bei gleicher Durchlaufgeschwindigkeit

Tabelle 6.

Quantitative Trennung des Galliums von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen an Dowex 50 in einer 100 cm langen Säule.

Gegeben mg						Salzsäure zum Eluieren				Gefunden					
						des Ga		d. anl. Metalle							
Ga	Sb	Pb	Cu	Zn	Fe	Normalität	Menge ml	Normalität	Menge ml	mg Ga	Fehler %	mg Cu	Fehler %	mg Fe	Fehler %
185,0			48,5							184,7	−0,16	48,7	+0,41		
185,2			97,0							185,0	−0,11	97,1	+0,1		
185,2			145,5			1,5	2000	1,0	2000	184,7	−0,27	145,1	−0,27		
92,6			48,5							92,0	−0,82	48,1	−0,82		
92,6			145,5							92,4	−0,34	145,0	−0,34		
185,0	20	20	20	20						184,7	−0,16				
185,0	50	50	50	50						184,8	−0,11				
185,0	100	100	100	100		1,5	2000	0,8	2000	184,5	0,27				
185,0	150	150	150	150						184,7	−0,16				
185,0	200	200	200	200						184,8	−0,11				
					als Fe^{II}										
98,5					104,0					97,9	−0,61			104,5	+0,49
98,5					57,0					97,8	−0,71			57,4	+0,7
197,0					104,0	1,5	2000	1,0	1200	196,1	−0,45			104,5	+0,49
197,0					57,0					196,0	−0,51			57,5	+0,88
					als Fe^{III}										
95,2			50	50	50					94,8	−0,46				
95,2			100	50	50	1,5	2000	1,0	1000	94,9	−0,35				
95,2			50	100	100					95,0	−0,24				

herausgewaschen. Gallium wird unter derselben Bedingung mit 2000 ml 1,5 n Salzsäure eluiert. Wenn keine anderen Ionen am Austauscher haften, kann das Gallium auch durch kleinere Menge stärkerer Salzsäure eluiert werden. Aus den Eluaten werden aliquote Teile zur Analyse verwendet.

Tabelle 7. *Quantitative Trennung des Galliums von Indium an Dowex 50 in einer 100 cm langen Säule.*

Gegeben mg Ga	Gegeben mg In	Gefunden mg Ga	Fehler %	Gefunden mg In	Fehler %
92,6	196,8	92,1	— 0,54	197,2	+ 0,21
92,6	98,4	92,2	— 0,41	98,2	— 0,2
92,6	49,2	92,0	— 0,65	49,0	— 0,41
185,2	196,8	185,0	— 0,10	197,1	+ 0,15
185,2	49,2	184,6	— 0,32	49,1	— 0,2

Es ist also außerordentlich bequem, die beiden nahe verwandten Elemente Indium und Gallium mit Hilfe von Kationenaustauschern zu trennen.

Die während unserer Versuche erschienenen Veröffentlichungen von Wiberg u. Mitarb.[9] „Zur Kenntnis von Halogenosäuren $HMeX_4$ der dritten Hauptgruppe des Periodensystems" haben uns veranlaßt, auch das Verhalten des Indiums und Galliums am Austauscher gegen Bromwasserstoffsäure zu untersuchen. Dabei zeigt sich kein Unterschied im Verhalten des Indiums gegenüber demjenigen gegen Salzsäure, d. h. Indium wird auch durch 0,4—0,5 n Bromwasserstoffsäure vollständig eluiert. Gallium wird aber schon von 0,7 n Bromwasserstoffsäure quantitativ abgelöst, während bei Salzsäure eine Normalität = 1,3 erforderlich ist. Diese Befunde bestätigen bis zu einem gewissen Grade diejenigen von Wiberg u. Mitarb., nach denen die Beständigkeit der Halogenosäuren vom Aluminium über das Gallium zum Indium, geprüft an der zunehmend schwächer werdenden Reaktion mit Wasser, zunimmt. Daher läßt sich auch Indium schon durch 0,4 n Salzsäure eluieren, während Gallium hierzu 1,3 n Salzsäure benötigt. Bei Bromwasserstoffsäure ist der Unterschied geringer.

4. Trennung des Germaniums von Kupfer.

Bei der qualitativen Prüfung des Verhaltens der wäßrigen Lösung des Germaniumdioxydes gegenüber Dowex 50 in der H-Form zeigt sich, daß das Germanium nicht an den Austauscher gebunden wird. Hieraus ergibt sich die Möglichkeit, die Trennung des Germaniums von Kationen, wie Blei, Kupfer, Zink und Eisen dadurch zu bewerkstelligen, daß die Kationen gebunden werden, während Germanium durchläuft. Germanium müßte also im Durchlauf quantitativ bestimmt werden können,

während die anderen Kationen erst mit Säure eluiert werden müssen und dann bestimmt werden können. Schwierigkeiten ergeben sich bei Gegenwart von Arsen und Antimon, da diese Elemente in Form von Anionen vorliegen und deshalb wie das Germanium vom Kationenaustauscher nicht gebunden werden, also mit dem Germanium zusammen in den Durchlauf gelangen können. Diesbezügliche Versuche sind nicht ausgeführt worden.

Zur Prüfung der grundsätzlichen Möglichkeit der Trennung des Germaniums von Kationen sind nur Versuche mit Mischungen von Germanatlösungen mit Kupferchloridlösungen auf einer 25 cm langen Säule ausgeführt worden. Die Werte der Tab. 8 lassen erkennen, daß diese Trennung mit gutem Erfolg auszuführen ist. Im Vergleich mit den im Vorhergehenden mitgeteilten Ergebnissen besteht kein Zweifel, daß auch Trennungen anderer Kationen vom Germanium ohne weiteres erfolgreich auszuführen sein werden.

Tabelle 8. *Quantitative Trennung des Germaniums von Kupfer an Dowex 50 in einer 25 cm langen Säule.*

Gegeben		Gefunden	Fehler	Gefunden	Fehler
mg Ge	mg Cu	mg Ge	%	mg Cu	%
99,9	50	99,7	— 0,2	—	—
199,8	50	199,5	— 0,15	—	—
199,8	48,5	199,4	— 0,2	48,2	— 0,62
199,8	97,0	199,5 +	— 0,15	96,8	— 0,21
199,8	145,5	199,4 +	— 0,2	145,7	+ 0,15
99,9	48,5	99,1 +	— 0,8	48,4	— 0,21
99,9	97,0	99,9	0	97,2	+ 0,21
99,9	145,5	99,5	— 0,4	145,0	— 0,34

Der bei der quantitativen Germaniumbestimmung erhaltene Niederschlag von Magnesiumgermanat ist spektralanalytisch auf die Abwesenheit von Kupfer geprüft worden, und zwar in den in Tab. 8 angekreuzten Fällen. In allen 3 Proben ist keine Spur von Kupfer gefunden worden, die Trennung des Kupfers vom Germanium ist also vollständig.

Es lassen sich demnach auch Trennungen des Germaniums von Kationen bequem und erfolgreich mit Hilfe des Ionenaustausches durchführen.

Zusammenfassung.

Mit Hilfe von Kationenaustauschern in der H-Form, z. B. Dowex 50, lassen sich mühelos und genau folgende Trennungen ausführen:

1. Indium von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen(III),
2. Gallium von Antimon, Blei, Kupfer, Zink und Eisen(II),
3. Gallium von Indium,
4. Germanium von Kupfer (und anderen Kationen).

Hierbei wird Indium durch 0,4 n Salzsäure *vor* den anderen Kationen eluiert. Bei Anwesenheit von Antimon wird dieses noch *vor* dem Indium durch 0,2 n Salzsäure vom Austauscher abgelöst, soweit es nicht von vornherein in den Durchlauf gelangt. — Gallium wird *nach* allen genannten Kationen durch 1,3 n Salzsäure eluiert. — Germanium wird vom Austauscher gar nicht gebunden, es gelangt also sofort quantitativ in den Durchlauf und die Kationen werden dann durch Salzsäure eluiert. — Alle Trennungen sind in kurzer Zeit ausführbar.

Wir danken der Firma Süddeutsche Telefon-Apparate-, Kabel- und Drahtwerke A.-G., TEKADE, Nürnberg, insbesondere den Herren Dr.-Ing. W. Mader und Dr.-Ing. Fr. Keller, aufrichtig für die uns bei der Durchführung dieser Untersuchung in reichem Maße zuteil gewordene Unterstützung.

Literatur.

[1] Blasius, E., u. M. Negwer: diese Z. **143**, 257 (1954). — [2] Geilmann, W., u. F. W. Wrigge: Z. anorg. allg. Chem. **209**, 129 (1932); vgl. diese Z. **98**, 430 (1934). — [3] Handbuch der analyt. Chem., herausgegeben von R. Fresenius u. G. Jander, 3. Teil, Band III, S. 557, 594 (1942). — [4] Jentzsch, D., I. Frotscher, G. Schwerdtfeger u. G. Sarfert: diese Z. **144**, 8 (1955). — [5] Klement, R.: diese Z. **127**, 2 (1944). — [6] Müller, J. H.: J. Amer. chem. Soc. **44**, 2496 (1922). — [7] Nachod, F. C.: Ion Exchange, Academic Press, New York 1949. — [8] Pietsch, E., u. W. Roman: Z. anorg. allg. Chem. **220**, 219 (1934); vgl. diese Z. **103**, 215 (1935). — [9] Wiberg, E., M. Schmidt u. A. Galinos: Angew. Chem. **66**, 443, 444 (1954).

Prof. Dr. Robert Klement, München 9, Schweiger-Str. 8.

Mitteilung aus dem Staatlichen Institut für Arzneimittelprüfung, Berlin.

Beitrag zur photometrischen Bestimmung von Adrenalin und anderen Brenzcatechinabkömmlingen in Arzneifertigwaren.

Von

J. Richter.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 31. Januar 1955.)

Relativ häufig wird auf dem Gebiet der Arzneimittelanalyse die quantitative Erfassung von Adrenalin in Injektionslösungen für die Lokalanaesthesie, in Asthmamitteln usw. verlangt. Hierbei ist die Bestimmung von Adrenalin nach der Vorschrift von Jackerott[2] nicht möglich, wenn die betreffenden Lösungen Sulfite oder Ähnliches als Stabilisatoren enthalten, da die oxydative Überführung des Adrenalins

in einen rotvioletten Farbkörper durch Jod in gepufferter Lösung nicht in Anwesenheit jodreduzierender Verbindungen gelingt. Bei der Suche nach einer für diese Fälle anwendbaren Vorschrift erwies sich unter den bekannten Methoden[1, 2, 3] die des amerikanischen Arzneibuches, 14. Ausgabe, in Verbindung mit dem PULFRICH-Photometer am geeignetsten.

Grundlage dieser Bestimmung ist eine Violettfärbung, die unter entsprechenden Bedingungen Eisen(II)-Ionen mit Adrenalin geben. Die Vorschrift eignet sich nach unseren Versuchen auch zur Bestimmung anderer Brenzcatechinabkömmlinge, wobei Jenacain (Novocain), Medicain (Pantocain) und Falicain (4-Propoxyphenylpiperidinäthylketonhydrochlorid) in den üblichen Konzentrationsverhältnissen nicht stören.

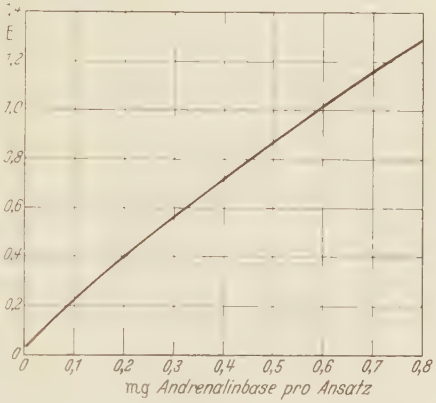

Abb. 1. Eichkurve zur Adrenalinbestimmung.

Zur Ausführung der Methode werden folgende Reagenzien benötigt:

Eisencitratlösung. 1 g Natriumhydrogensulfit und 1,5 g Eisen(II)-sulfat werden in einer Mischung von 200 ml Wasser und 1 ml n Salzsäure gelöst. 10 ml dieser Lösung versetzt man mit 0,5 g Natriumcitrat. — Die Lösung muß stets frisch bereitet werden.

Pufferlösung. 42 g Natriumhydrogencarbonat und 50 g Kaliumhydrogencarbonat werden mit 180 ml Wasser geschüttelt (Lösung nicht vollständig!). Zu weiteren 180 ml Wasser gibt man 37,5 g Glykokoll und 17 ml 30%ige Ammoniaklösung. Die beiden Lösungen werden gemischt, mit Wasser auf 500 ml aufgefüllt und geschüttelt, bis vollständige Lösung eingetreten ist.

0,2%ige Natriumhydrogensulfitlösung.

Arbeitsweise.

Die zu untersuchende Lösung wird mit Natriumhydrogensulfitlösung auf 10 ml aufgefüllt und mit 0,1 ml Eisencitratlösung sowie mit 1 ml Pufferlösung versetzt. Nach jedem Zusatz ist gut umzuschütteln. Die Messung wird nach 30 min im PULFRICH-Photometer gegen Wasser vorgenommen. (Filter: S 53; Schichtdicke: 20 mm.) Die Eichkurve ist in Abb. 1 wiedergegeben.

Bemerkungen. Bei Anwesenheit von Falicain werden nach Ende der Wartezeit 11 ml Äthylalkohol hinzugefügt. Die dann abgelesene Extinktion ist vor Auswertung mit der Eichkurve mit 2 zu multiplizieren.

Zur Umrechnung auf andere Brenzcatechinabkömmlinge sind die der Eichkurve für Adrenalin entnommenen Werte mit den in Klammern angegebenen Faktoren zu multiplizieren. *Corbasil, Contractin* (1); *Noradrenalin* (0,906); *Novodrin, Aludrin* (1,41).

Belegwerte.

Arzneifertigware	*Gefundener Gehalt*
Novodrin-Tabletten zu 20 mg	19 mg Novodrin
Injektionslösung I. 2% Jenacain + 0,005% Noradrenalin + 0,15% Kaliummetabisulfit	0,0052% Noradrenalin
Injektionslösung II. 1% Jenacain + 0,0025% Adrenalin + 0,3% Kaliummetabisulfit	0,0027% Adrenalin
Injektionslösung III. 0,1% Medicain + 0,0025% Adrenalin + 0,15% Kaliummetabisulfit	0,0025% Adrenalin
Injektionslösung IV. 0,5% Falicain + 0,005% Adrenalin + 0,0075% Ascorbinsäure	0,0052% Adrenalin
Adrenalin-Lösung 1:1000	0,105% Adrenalin
Adrenalin-Lösung 1:1000 mit äußerlich wahrnehmbaren Zersetzungserscheinungen	0,02% Adrenalin

Zusammenfassung.

Es wird eine Methode zur photometrischen Bestimmung von Adrenalin, Corbasil (Contractin), Noradrenalin und Novodrin (Aludrin) beschrieben. Adrenalin, Corbasil und Noradrenalin lassen sich auch neben Jenacain (Novocain), Medicain (Pantocain) und Falicain in den im Handel befindlichen Injektionslösungen bestimmen.

Literatur.

[1] Heinrich, P., u. W. Schuler: Helv. chim. Acta **31**, 320 (1948). — [2] Jackerott, K. A.: Dansk Tidsskr. Farmaci **15**, 217 (1941), dort weitere Methoden zitiert (Adrenalin, Corbasil). — [3] Salgó, É.: diese Z. **138**, 101 (1953).

Dr. J. Richter, Berlin-Friedrichshagen, Müggelseedamm 252.

Aus dem Laboratorium des Bauxitbergbaues Unterlaussa (Österreich).

Schnellbestimmung der Kieselsäure im Bauxit nach der Perchlorsäuremethode.

Von

Karl Medicus.

(Eingegangen am 3. Februar 1955.)

Aus der Schnellmethode von F. W. Meier[2] zur Bestimmung von Kieselsäure, Tonerde, Eisen und Kalk konnte ich eine für bestimmte Bauxite geeignete empirische Methode entwickeln, über die im folgenden kurz berichtet werden soll.

Da die von Meier verwendete salzsäurehaltige Perchlorsäure Bauxite nicht genügend aufschließt, wurden verschiedene Mischungsverhältnisse von Perchlorsäure und Schwefelsäure mit und ohne Salzsäurezusatz erprobt. Die unten angegebene Mischung schließt die meisten Bauxite so weit auf, daß die für Abbaumuster erforderliche Genauigkeit erreicht wird, ohne daß man Rohkieselsäure mit Flußsäure abzurauchen braucht. Die Menge der in der Rohkieselsäure zurückbleibenden Verunreinigungen schwankt nur in geringen Grenzen und ist für ein und dasselbe Bauxitvorkommen nicht vom Kieselsäuregehalt abhängig, sondern wird nur durch die Dauer des Aufschlusses etwas beeinflußt.

Weil der Rückflußkühler vor Erreichung des eutektischen Siedepunktes der Perchlorsäure aufgesetzt wird, entweichen nur wenig Perchlorsäuredämpfe. Für häufige Arbeit mit dieser Säure sei jedoch auf die von J. Eisen[1] angegebenen Sicherheitsmaßnahmen hingewiesen.

Arbeitsweise.

Die Perchlorsäuremischung enthält 14 Volumteile verdünnte Salzsäure (1,09), 23 Volumteile verdünnte Schwefelsäure (1,53) und 63 Volumteile 60%ige Perchlorsäure (1,54).

0,5 g feingemahlener Bauxit (4900 Maschen) werden in einem Jenaer Kölbchen, auf welches sich durch Schliff ein luftgekühltes Rohr aufsetzen läßt, mit 20 ml obiger Säuremischung übergossen und langsam auf dem Sandbade erhitzt, so daß vom Siedebeginn bei 96° C bis zum Entweichen dichter, weißer Dämpfe bei 170° C (mitten im Kölbchen gemessen; die Außenwand bleibt 30—40° C kälter) etwa 40 min verstreichen. Bei 170° C setzt man den Rückflußkühler auf und erhitzt noch 15 min weiter. Das Kölbchen wird dann vom Sandbad genommen. Sobald es sich etwas abgekühlt hat, setzt man 25 ml 10%ige Salzsäure zu und digeriert 5 min auf dem Sandbade; hierauf wird die Kieselsäure abfiltriert, mit heißem, salzsäurehaltigem Wasser gewaschen, geglüht und gewogen.

Von der Auswaage ist eine für jedes Bauxitvorkommen empirisch zu ermittelnde Korrektur (für die in der Rohkieselsäure zurückgebliebenen Verunreinigungen) abzuziehen (vgl. Tab. 1, S. 338).

Tabelle 1. *Vergleichsanalysen.*

Bauxit von:	Rohkieselsäure vom Perchlorsäureaufschluß %	Kieselsäure nach üblicher Methode (mit HF abgeraucht) %	Differenz %
Unterlaussa A	4,2	3,0	1,2
Unterlaussa B	6,2	5,1	1,1
Unterlaussa C	7,9	6,9	1,0
Unterlaussa D	9,4	8,3	1,1
Unterlaussa E	13,5	12,2	1,3
Unterlaussa F	13,9	12,8	1,1
Holländ. Guayana. .	4,0	3,3	0,7
Umago, Jugoslawien . .	4,0	3,1	0,9
Drniš, Jugoslawien . .	4,4	3,7	0,7
Brignoles, Frankreich .	3,1	1,0	2,1
Eleusis, Griechenland .	4,0	1,5	2,5

Bei den beiden letztgenannten Bauxiten in Tab. 1 gibt die Methode (wenn man nicht mit Flußsäure abrauchen will) keine genaueren Resultate als die colorimetrische Bestimmung der Kieselsäure; in diesen Fällen ist die neue Methode nicht zu empfehlen. Die Anwendung der gefährlichen und teuren Perchlorsäure dürfte überhaupt nur zu rechtfertigen sein, wenn man dadurch die zusätzliche Operation des Abrauchens mit Flußsäure erspart.

Im Bauxitbergbau Unterlaussa wird das beschriebene Verfahren seit 2 Jahren zur Analyse einzelner dringender Abbaumuster benützt, wenn sich der für die Sortierung maßgebende Kieselsäuregehalt nicht nach dem Aussehen schätzen läßt.

Literatur.

[1] Eisen, J.: Metall (Berlin) **5**, 436 (1951); vgl. diese Z. **139**, 148 (1953). — [2] Meier, F. W.: Zement **21**, 287, 305 (1932); vgl. diese Z. **96**, 155 (1934); vgl. auch F. W. Meier und O. Fleischmann: diese Z. **88**, 84 (1932).

Dr. K. Medicus, Salzburg, Franz-Josef-Straße 21 (Österreich).

Aus dem E-Laboratorium der Berliner Kraft- und Licht (Bewag)-A-G, Berlin-Spandau, Kraftwerk Reuter.

Die Bestimmung des in Wasser gelösten Sauerstoffes mit Leukindigocarmin und allgemeine Betrachtungen zu den O_2-Bestimmungen.

Von

Kurt Wickert und Edith Jaap.

(Eingegangen am 10. Februar 1955.)

Die gelbe Leukobase von Indigocarmin wurde zur Sauerstoffbestimmung erstmalig von W. W. Efimoff[3] verwendet. In jüngster Zeit benutzte sie P. L. Babkin[1] zur Bestimmung des Sauerstoffes in Kraftwerkswässern.

Den Gegenstand der vorliegenden Untersuchung bildet eine Indigocarminmethode, die an Empfindlichkeit und Einfachheit in der Ausführung den Anforderungen der Praxis gerecht zu werden vermag. Die oben genannten Arbeiten sind der Ausgangspunkt unserer Untersuchungen.

Die Indigocarminmethode.

Die Leukobase von Indigocarmin (Leukindigodisulfonsäure) wird durch Reduktion einer ammoniakalischen Indigocarminlösung (Indigodisulfonsäure) über Zink hergestellt. Die Lösung des Leukindigocarmins wird dann in eine mit dem zu untersuchenden Wasser gefüllte Probenahmeflasche gegeben, die gleichzeitig als Küvette für die anschließende lichtelektrische Colorimetrierung dient.

Die Eichkurve wurde mit der blauen Indigocarminlösung aufgenommen, deren Sauerstoffäquivalent sich direkt aus dem Molekulargewicht des zugehörigen Leukindigocarmins berechnen läßt.

Chemikalien.

A. Vorratslösung Indigocarmin (Indigodisulfonsäure Merck).

In einen 500 ml-Meßkolben werden 0,4 g Indigocarmin und 1 ml konz. Schwefelsäure gegeben. Der Kolben wird mit dest. Wasser aufgefüllt. Diese Vorratslösung nimmt langsam in ihrem Indigocarmingehalt ab. Sie ist aber mehrere Wochen verwendbar.

B. Leukindigocarminlösung (Leukindigodisulfonsäure).

In eine 25 ml-Bürette mit ausgezogener Spitze wird unten ein Drahtnetz (V2A-Stahl) eingeführt und darüber eine etwa 15 cm hohe Schicht groben Zinkpulvers (Riedel-de Haën, Zink zur Analyse, grobes Pulver). Ein Anteil aus der Vorratslösung A. wird mit so viel Milliliter einer 1 n NH_3-Lösung versetzt, bis er 0,2—0,1 n ist. Diese ammoniakalische Indigocarminlösung wird in die Bürette gegeben und durch Öffnen des Hahnes so lange ablaufen gelassen, bis der Sauerstoff der Luft, die sich unterhalb des Drahtnetzes befindet, verbraucht oder bis die gesamte Luft verdrängt ist. Dann füllt man die Bürette so weit auf, bis sich der Meniskus oberhalb der Zinkschicht, aber noch innerhalb der Graduierung, befindet. Die Bürette ist jetzt gebrauchsfertig.

Nach Ausführung sämtlicher O_2-Bestimmungen, spätestens nach einem 8stündigen Arbeitstag wird die gesamte Restlösung aus der Bürette entfernt und die Bürette mit dest. Wasser gespült. Die Bürette bleibt mit geöffnetem Hahn stehen. Bei neuen O_2-Bestimmungen wird die ammoniakalisch gemachte Lösung A. wieder in die Bürette gegeben. Wenn die Zinkschicht so weit angegriffen ist, daß die Filtration schwer verläuft, muß auch diese erneuert werden.

C. Colorimeter und Eichkurve.

O_2-Gehalte zwischen 3 $\mu g/l$ (der niedrigste bei uns vorgekommene Gehalt) und 120 $\mu g/l$ wurden mit dem Universalcolorimeter von Dr. Lange bestimmt (Modell IV mit Multiflexgalvanometer MGF 2, Empfindlichkeit $4 \cdot 10^{-9}$ A, Lampe 4 V, 5 W, Gelbfilter OG 2).

O_2-Gehalte zwischen 25 und 600 $\mu g/l$ können auch mit dem einfachen Becherglascolorimeter gemessen werden (100 Skalenteile 4 μA, Gosseninstrument, Lampe 6 Volt 15 W, Gelbfilter OG 2).

Das Multiflexgalvanometer wurde mit einer 2%igen $CuSO_4 \cdot 5\,H_2O$-Lösung, die auf 250 ml 1 ml konz. Schwefelsäure enthielt, auf den Ausschlag 100 eingestellt. Die Nulleinstellung wurde mit dem Probewasser ausgeführt.

Die Eichkurve wurde mit der Vorratslösung A von bekanntem Indigocarmingehalt aufgestellt. 1 Mol Indigocarmin entspricht 1 Mol Sauerstoff.

Arbeitsvorschrift.

Als Probenahmeflaschen und Küvetten dienten sorgfältig hergestellte 100 ml-Flaschen mit abgeschrägtem Schliffstopfen. Die Probeflaschen wurden in ein den Flaschenhals überragendes Becherglas gestellt. Der Gummischlauch für die Wasserprobe wird in die Flasche eingeführt. Das überlaufende Wasser füllt erst die Flasche und dann das Becherglas, aus dem es weiter überläuft. Der Gummischlauch wird vorsichtig aus der Flasche entfernt und in das Becherglas eingehängt, das ständig überläuft. Aus der Bürette (*B*) läßt man einige Tropfen Leukindigocarminlösung ablaufen, führt dann die Bürettenspitze durch die überstehende Wasserschicht in den Flaschenhals ein und läßt 1 ml Leukindigocarminlösung zulaufen. Der Stopfen wird dann unter dem immer noch überlaufenden Wasser aufgesetzt. Die Flasche wird aus dem Wasser entfernt, umgeschüttelt und wieder in das Wasser gestellt. Sie kann auch vorteilhaft, wenn weitere Probenahmen durchgeführt werden, in einen größeren tragbaren Behälter gesetzt werden, der gleichtemperiertes Wasser wie die Flasche enthält. Der Flascheninhalt und das umgebende Wasser dürfen bis zur Messung nicht abkühlen, weil sonst beim Herausnehmen der Flasche aus dem Wasser Luft eingesaugt werden kann. Die Probeflasche wird in das Colorimeter eingestellt und mit Hilfe des Galvanometerausschlages und der Eichung kann der O_2-Gehalt des Wassers in μg/l angegeben werden. Die Werte stimmen mit denen nach der Tolidinmethode[2,6,10] überein.

Die eben geschilderte Arbeitsvorschrift wurde an Kondensaten mit O_2-Gehalten von 3—50 μg/l erprobt. Eine Steigerung der zugegebenen Milliliter Leukindigocarminlösung auf den 3fachen Wert veränderte die O_2-Werte nicht. Noch höhere Zugaben wurden nicht ausprobiert. Charakteristisch ist für die Indigocarminmethode, daß kein Sauerstoff durch die Chemikalienzugabe eingeschleppt wird. Die Indigocarminfärbung ist zeitlich konstant.

Anmerkung: Es sei noch darauf hingewiesen, daß es nicht gleichgültig ist, welche Arten von Gummischläuchen bei der Analyse verwendet werden, da die Gummischläuche Poren haben. Die geringsten O_2-Werte wurden mit den gasdichten Butylschläuchen ASY der Continental AG, Hannover, gefunden.

Störende Substanzen bei der Indigocarminmethode.

Für ein Wasser, das etwa 30 μg/l Sauerstoff enthielt, wurde geprüft, welche Gehalte an Fremdsubstanzen zugegen sein können, ehe Sauerstoffmengen angegeben werden, die mit einem Fehler behaftet sind, der die Analysengenauigkeit von 2—3 μg/l überschreitet.

Na_2SO_3 stört bei einer Konzentration von 1,5 mg/l und $\frac{1}{2}$ Std Wartezeit zwischen Probenahme und Messung nicht.

$Na_2S_2O_4$ stört dagegen schon ab 10 μg/l. Fe^{2+} stört sogar bei jeder zugegebenen Menge entsprechend seinem O_2-Äquivalent. N_2H_4 stört den O_2-Nachweis oberhalb 500 μg/l. Huminsäuren stören den O_2-Nachweis

nicht chemisch. Ihre Eigenfärbung muß jedoch berücksichtigt werden. Fe^{3+} stört bei einer Zugabe von 1,8 mg/l noch nicht. Die Gelbfärbung durch die Fe^{3+}-Ionen braucht nicht berücksichtigt zu werden, da sie wegen des eingeschalteten Gelbfilters ohne Einfluß auf die colorimetrische Messung ist.

Für die Indigocarminmethode ist somit charakteristisch, daß ihr aus chemischen Gründen keine allgemeine Anwendbarkeit zukommt. Die Brom-[9] und die Bromdifferenzmethoden[8] sind dagegen allgemein anwendbar.

Berücksichtigung von Eisen(II) bei der Indigocarminmethode.

Wenn Fe^{2+} in solchen Mengen im Wasser zugegen ist, daß sein O_2-Äquivalent den Fehlerbereich der Indigocarminmethode überschreitet, dann kann der wirkliche O_2-Gehalt des Wassers mittels dreier Probenahmen wie folgt bestimmt werden[8]:

A = μg/l O_2 nach der Indigocarminmethode.

B = mg/l Fe^{3+} nach der folgenden Methode:

Wasser + 1 ml 0,2 n NH_3 + HCl + KSCN und Bestimmung von Fe^{3+}.

C = mg/l Fe^{3+} nach der folgenden Methode:

Wasser + HCl + KSCN und Bestimmung von Fe^{3+}.

Der wirkliche O_2-Gehalt ist dann: $A + (B—C) \cdot 143 = \mu g/l\ O_2$.

Allgemeine Bemerkungen zur O_2-Bestimmung.

1. $KMnO_4$-Zahl und störende Substanzen.

Oft wird angenommen, daß schon dann störende Substanzen für eine O_2-Methode im Wasser vorhanden sind, wenn das betreffende Wasser eine $KMnO_4$-Zahl hat. Die Annahme ist unrichtig. Theoretisch ist das schon aus den unterschiedlichen Arbeitsweisen bei der Permanganatzahlbestimmung und den O_2-Bestimmungen zu folgern. Praktisch hat sich ergeben, daß z. B. beträchtliche Mengen an Hydrazin, Natriumsulfit usw. vorhanden sein können, ehe die Tolidin-[2, 6, 10] oder Indigocarminmethode gestört werden. Diese Wässer haben aber eine mehr oder weniger große Permanganatzahl. Es konnte sogar festgestellt werden, daß wiederholt über Permanganat destillierte Wässer, deren Destillate mit Tolidin keine Färbung gaben, einen geringen $KMnO_4$-Zerfall von einigen μg O_2 aufwiesen. Weder Licht noch die Glasoberfläche beeinflussen den Zerfall. Er war aber vom p_H-Wert abhängig. Im sauren Wasser war der Zerfall am stärksten, während er in alkalischen Wässern viel schwächer war und am schwächsten in einem neutralen Wasser. Der prozentuale Zerfall ist außerdem von der $KMnO_4$-Konzentration abhängig und von der Zugabe an $MnCl_2$, das ihn verlangsamt.

2. Über verschiedene Differenzmethoden.

Einige Abwandlungen von Differenzmethoden wurden von uns näher untersucht. Für die Durchführung der Differenzmethoden sind 2 Wasserproben A und B zu nehmen[4]. Nach der Reihenfolge der Chemikalienzugabe läßt sich die erste Differenzmethode wie folgt hinschreiben:

$$\begin{aligned} &A.\ \text{Wasser} + Mn^{2+} + NaOH + H_2SO_4 + Mn^{7+} + \text{Tolidin},\\ &B.\ \text{Wasser} \qquad\qquad + H_2SO_4 + Mn^{7+} + \text{Tolidin}. \end{aligned} \tag{1}$$

Das Sauerstoffäquivalent der Tolidinfärbungen wird bestimmt und aus der Differenz $A-B$ wird der Sauerstoff errechnet. Von dem A-Wert des Sauerstoffes ist noch der durch die Chemikalienzugabe in die Probe eingeführte Sauerstoff abzuziehen.

Für diese und ähnliche Differenzmethoden gilt, daß sie bei Abwesenheit von reduzierenden Substanzen und bei Anwesenheit von solchen Mengen reduzierender Substanzen, die eine Tolidinmethode noch nicht zu stören vermögen, immer zu richtigen O_2-Angaben führen. In solchen Fällen erübrigt sich aber die Anwendung einer Differenzmethode, weil die einfachere Tolidin- oder die Indigocarminmethode ebenfalls richtige O_2-Werte ergeben. Sind aber in der oben angegebenen Differenzmethode (1) Na_2SO_3 oder $Na_2S_2O_4$ in solchen Mengen zugegen, daß die Tolidinmethode gestört wird, dann führt auch die Differenzmethode (1) zu falschen O_2-Angaben. Die gefundenen O_2-Gehalte sind um so verkehrter, je höher die Konzentration dieser Störsubstanzen ist. Die Ursache für das Versagen der obigen Methode bei Anwesenheit von störenden Mengen an Na_2SO_3 und $Na_2S_2O_4$ liegt — wie die Versuche ergaben — in der verhältnismäßig hohen Reaktionsgeschwindigkeit dieser Stoffe mit Mn^{7+} und Mn^{4+} im alkalischen Medium und der viel langsameren Reaktionsgeschwindigkeit im sauren Medium. Die hohe Reaktionsgeschwindigkeit kommt aber nur in der A-Probe zur Geltung. Die A- und B-Umsetzungen sind also nicht gleichwertig und die Methode (1) muß bei den genannten Störsubstanzen zu falschen O_2-Angaben führen. Die Unterschiede zwischen den A- und B-Reaktionen sind besonders kraß bei Wässern mit hohen Sauerstoffgehalten und dem Sauerstoff entsprechenden Gehalten der Reduktionsmittel Na_2SO_3 und $Na_2S_2O_4$.

Würde ein Reduktionsmittel existieren, dessen Reaktionsgeschwindigkeit mit Mn^{7+} und Mn^{4+} im sauren Medium bedeutend größer ist als im alkalischen, dann müßte die obige Differenzmethode praktisch richtige O_2-Werte angeben. Ein Reduktionsmittel, das diese Bedingungen erfüllt, ist das Hydrazin. Es reagiert mit dem Mn^{7+} bevorzugt im sauren Medium. Die A- und B-Reaktionen werden dann ziemlich gleichwertig und die O_2-Angaben dementsprechend richtiger.

Der Differenzmethode (1) kommt demnach keine Allgemeingültigkeit zu. Bezüglich des Hydrazins ist noch zu erwähnen, daß es in der Praxis kaum in solchen Mengen in den Wässern vorkommt, die bei der Tolidin- und Indigocarminmethode schon stören. Man wird somit wohl stets in der Lage sein, hier anstatt der Differenzmethode eine einfache Methode anzuwenden.

Werden an Stelle von Mn^{7+} und Mn^{4+} die von SCHUMANN[5] vorgeschlagenen Ce^{3+} und Ce^{4+} in die Differenzmethode (1) eingeführt, dann ergeben sich ähnliche Resultate wie die eben geschilderten.

Eine andere Differenzmethode, in der die Reihenfolge der Chemikalienzugaben gegenüber (1) geändert wurde, ist die folgende:

$$\begin{aligned} &A.\ \text{Wasser} + Mn^{7+} + Mn^{2+} + NaOH + H_2SO_4 + \text{Tolidin},\\ &B.\ \text{Wasser} + Mn^{7+} \quad\quad + NaOH + H_2SO_4 + \text{Tolidin}. \end{aligned} \tag{2}$$

Das Mn^{7+} reagiert in A und B beinahe gleichartig mit der reduzierenden Substanz, da nur der Mn^{2+}-Einfluß einen Unterschied bedingen kann. Die Untersuchungen ergaben, daß bei hohen Sauerstoffgehalten und Anwesenheit der Reduktionsmittel Na_2SO_3 und $Na_2S_2O_4$ richtige O_2-Werte gemessen werden. Bei geringen O_2-Gehalten (20 μg/l) wurden dagegen zu niedrige Sauerstoffmengen gefunden. Das gilt auch dann, wenn in (2) die Mangan- durch die Cersalze ersetzt werden. Es ergab sich, daß die Methode (2) nur dann zum Ziele führt, wenn erhebliche $KMnO_4$-Mengen zugegen sind. Bei Wässern mit geringen O_2-Gehalten ist dies nicht durchführbar, da dann der Fehlerbereich der Differenzmethode zu groß wird.

Eine Ce^{4+}-Differenzmethode, mit der für alle Reduktionsmittel noch einigermaßen richtige O_2-Werte gemessen wurden, ist die folgende:

$$\begin{aligned} &A.\ \text{Wasser} + Ce^{3+} + NaOH + Ce^{4+} + H_2SO_4 + \text{Tolidin},\\ &B.\ \text{Wasser} \quad\quad + NaOH + Ce^{4+} + H_2SO_4 + \text{Tolidin}. \end{aligned} \tag{3}$$

Werden an Stelle der Ce-Salze Mn-Salze verwendet, so ergeben sich ähnliche Resultate.

Der durch die Chemikalien in die Lösung hineingebrachte O_2 wirkt sich nur in A aus und muß von dem gefundenen A-Wert abgezogen werden.

Ce^{4+} besitzt gegenüber Mn^{7+} den Vorteil, daß die Tolidinfärbung mit Ce^{4+} beständiger ist als mit Mn^{7+}.

Zusammenfassend läßt sich von den Differenzmethoden mit Cer- und Mangansalzen sagen, daß sie bei Anwesenheit von solchen Mengen an reduzierenden Substanzen, die eine einfache Tolidinmethode wirklich stören, nur dann einigermaßen richtig sind, wenn das Oxydationsmittel Ce^{4+} oder Mn^{7+} nicht erst in das saure Medium, sondern schon in das alkalische zugegeben werden. Bei Wässern mit sehr geringen O_2-Gehalten und damit auch geringen Zusätzen an Oxydationsmitteln wurden zu niedrige O_2-Werte gemessen.

Die Bromdifferenzmethode[8], auch die einfache Brommethode[9] umgehen diese Schwierigkeiten der Differenzmethoden mit Mangan- und Cer-Salzen. Sie sind für alle reduzierenden Substanzen anwendbar.

3. Der Gesamtsauerstoffgehalt eines Wassers.

Die bisherigen Untersuchungen über die Methoden der Sauerstoffbestimmung haben gezeigt, daß es eine Reihe von Verfahren gibt, die in

ihren Ergebnissen übereinstimmen und die in ihrem Reaktionsablauf als chemisch richtig zu bezeichnen sind.

Es erhebt sich nun die Frage, ob diese O_2-Angaben bloß relativ sind oder ob die gemessenen Angaben absolute Werte darstellen. Sie wären dann keine absoluten Werte, wenn z. B. bei der Tolidinmethode das Mn^{2+} während der NaOH-Zugabe nicht den gesamten im Wasser vorhandenen Sauerstoff binden würde. Damit wäre eine gewisse O_2-Menge der Analyse entzogen.

Bei Erhöhung der Mn^{2+}- und NaOH-Zugabe müßte der gefundene O_2-Wert ansteigen, wenn ein Restsauerstoff vorhanden wäre, der größer wäre als die Genauigkeitsgrenze der Analysenmethode. Trotz erheblicher Erhöhungen der Mn^{2+}- und NaOH-Zugaben ergab sich aber keine Erhöhung des gefundenen O_2-Wertes. Dasselbe war bei der Indigocarminmethode der Fall. Auch hier brachte die Erhöhung der Zugabe von Leukindigocarmin keine größeren O_2-Werte.

Daraus wäre zu folgern, daß innerhalb der Genauigkeit der Analysenmethode die gefundenen O_2-Werte absolute Angaben darstellen.

Eine Bestätigung für diesen Befund liefern auch die übereinstimmenden O_2-Messungen nach den verschiedensten Methoden, insbesondere den Tolidinmethoden mit Mn^{2+}- und Ce^{3+}-Salzen, der Ferromethode[7] mit Fe^{2+}-Salzen und der Indigocarminmethode mit dem Leukindigocarmin als sauerstoffbindender Substanz.

Obwohl die Redoxpotentiale von Mn^{2+}, Fe^{2+}, Ce^{3+} und Leukindigocarmin unter den Bedingungen der Sauerstoffanalysen nicht bekannt sind, muß nach den Analysenergebnissen angenommen werden, daß sie in allen Fällen hinreichend sind, um den Sauerstoff so weit zu binden, daß der Restbetrag des nicht abgebundenen Sauerstoffs stets kleiner ist als der Fehlerbereich der Analysenmethoden von 2—3 μg/l.

Literatur.

[1] Babkin, P. L.: Arch. Energiewirtschaft **11**, 469 (1954). — [2] McCrumb, F. R., and W. R. Kenny: J. Amer. Water Works Assoc. **21**, 400 (1929); vgl. diese Z. **109**, 369 (1937); **134**, 389 (1951/52). — [3] Efimoff, W. W.: Biochem. Z. **155**, 371 (1925); siehe auch B. Lange: Kolorimetrische Analyse, Verlag Chemie 1952, und Fresenius-Jander: Handbuch d. analytischen Chemie. — [4] Freier, R.: Chemiker-Ztg. **76**, 844 (1952); Mit. Vereinig. Großkesselbesitzer **24**, 150 (1954); vgl. diese Z. **141**, 285 (1954). — [5] Schumann, K.: Brennstoff, Wärme, Kraft **6**, 37 (1954). — [6] Wickert, K.: Werkstoffe u. Korrosion **2**, 204, 209 (1951); vgl. diese Z. **134**, 389 (1951/52). — [7] Wickert, K., u. E. Ipach: Vom Wasser **18**, 337 (1950/51). — [8] Wickert, K., und E. Ipach: diese Z. **139**, 181 (1953). — [9] Wickert, K., u. E. Ipach: diese Z. **140**, 350 (1953). — [10] Zimmermann, M.: Mitt. Vereinig. Großkesselbesitzer **6**, 35 (1949); vgl. diese Z. **134**, 390 (1951/52).

Dr. K. Wickert, Berlin-Spandau, Otternbruchstraße,
Kraftwerk Reuter der Bewag A.G.

Department of Chemistry, Banaras Hindu University, Banaras (India).

Iodine Monochloride End Point in the Oxidation of Thiocyanate by Permanganate. Determination of Cerium.

By

G. S. Deshmukh and M. K. Joshi.

(Eingegangen am 14. Februar 1955.)

A volumetric method for the determination of KSCN depending on its quantitative oxidation by $KMnO_4$ in presence of ICl has been reported recently from these Laboratories[1]. In this procedure, a standard solution of permanganate was added slowly to thiocyanate solution in 1.5—2 N HCl medium and the end point was marked by the disappearance of the iodine colour from the CCl_4 layer.

Earlier observations showed that KSCN reduces $Ce(SO_4)_2$ quantitatively to the trivalent state and cerium may be estimated by titrating the excess thiocyanate by the Volhards procedure[2]. This method was, however, tedious and found to be impracticable in presence of HCl and other ions which generally interfere in argentometry. Furthermore, the end point in these titrations as detected by the appearance of the red ferric thiocyanate colour was rather difficult to perceive presumably due to the presence of a large number and concentration of other ions. These observations emphasised therefore the necessity of modifying the above procedure in the light of KSCN-$KMnO_4$ reaction[1]. The present communication reports a simple volumetric method for the estimation of cerium by permanganate.

Experimental.

Ceric sulphate solution was prepared by digesting in H_2SO_4 a commercial sample of CeO_2 obtained by igniting technical ceric ammonium nitrate[1]. Its cerium content was determined by titration with standard ferrous ammonium sulphate[3].

To an aliquot volume of ceric sulphate a measured excess of thiocyanate was added till the characteristic yellow colour of Ce^{IV} was discharged completely. A requisite amount of HCl to maintain an (overall normality) of the system between 1.5—2 N, 10 ml. of ICl and 5 ml. of CCl_4 were now introduced and the excess thiocyanate titrated directly with standard permanganate. The disappearance of (violet) iodine colour from the organic solvent, which coincided with the appearance of the permanganate colour in the aqueous layer, characterised the end of the titration. The difference in the volume of $KMnO_4$ required initially and that for back titration corresponds to the KSCN reacted with ceric sulphate according to the following equations:

$$5\,KSCN + 12\,H_2SO_4 + 6\,KMnO_4 \rightarrow 11\,KHSO_4 + 6\,MnSO_4 + 5\,HCN + 4\,H_2O \quad \text{(i)}$$

$$6\,Ce(SO_4)_2 + KSCN + 4\,H_2O \rightarrow 3\,Ce_2(SO_4)_3 + KHSO_4 + HCN + 3\,H_2SO_4 \quad \text{(ii)}$$

It follows therefore that 6 $Ce(SO_4)_2$ ≡ 1 KSCN ≡ 6/5 $KMnO_4$, or 1 ml. of 0.1 N $KMnO_4$ is equal to 0.01401 gm. of cerium.

Experimental results are returned in Table I. It will be seen that the amount of cerium calculated by the present method agrees well with that obtained by the standard procedure.

Table 1.

Expt. No.	Strength of $Ce(SO_4)_2$ (N)	Vol. of $Ce(SO_4)_2$ (ml.)	Normality of $KMnO_4$ (N)	Vol. of $KMnO_4$ — KSCN reacted (ml.)	Wt. of Cerium (gm.) Standard method	$KMnO_4$ method	Diff.
1.	0.05718	2.5	0.04475	3.20	0.02002	0.02005	0.00003
2.	0.05718	5.0	0.1147	2.50	0.040045	0.04017	0.000125
3.	0.02909	10.0	0.1147	2.55	0.04075	0.04095	0.00020
4.	0.05718	10.0	0.1147	5.0	0.08009	0.08034	0.00025
5.	0.02909	20.0	0.1147	5.05	0.08150	0.08112	0.00038
6.	0.05718	20.0	0.1147	10.0	0.16018	0.16068	0.00050
7.	0.02909	40.0	0.1147	10.15	0.16300	0.16290	0.00010
8.	0.05718	30.0	0.1147	14.95	0.24027	0.24020	0.00007
9.	0.02909	60.0	0.1147	15.25	0.24450	0.24480	0.00030

Since the estimation of cerium depends upon the oxidation-reduction reactions, the presence of other trivalent rare earths — the usual congeners of cerium — does not affect the accuracy of the results. Furthermore, it may be pointed out that besides its simplicity and rapidity, the above procedure is applicable over a wide range of cerium concentration.

Summary.

A new volumetric method for cerium determination based on the quantitative reduction of $Ce(SO_4)_2$ by excess potassium thiocyanate and titration of the excess with standard $KMnO_4$ to the ICl end point has been described.

Sincere thanks of the authors are due to Professor S. S. Joshi for facilities and kind interest in the work. The award of a U. P. Scientific Research Committee Scholarship to one of us (M.K.J.) is also gratefully acknowledged.

References.

[1] Deshmukh, G. S., and M. K. Joshi: Z. analyt. Chem. **142**, 275 (1954). — [2] Deshmukh, G. S., and B. R. Sant: Proc. Indian. Acad. Sci. **37**, 504 (1953). — [3] Smith, G. F., and C. A. Getz: Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **10**, 304 (1938). — [4] Willard, H. H., and P. Young: J. Amer. chem. Soc. **50**, 1322 (1928); cf. Z. analyt. Chem. **84**, 451 (1931).

Dr. G. S. Deshmukh, Department of Chemistry, Banaras Hindu University, Banaras (India).

Aus dem Kontroll-Laboratorium der Riedel-de Haën Aktiengesellschaft, Chemische Fabriken, Seelze/Hannover.

Zur photometrischen Bestimmung von Tellur mit Thioharnstoff.

Ausführung in salpetersaurer Lösung.

Von

Walter Nielsch und Lieselotte Giefer.

(Eingegangen am 21. Februar 1955.)

Es wurde schon gezeigt, daß Tellur mit Thioharnstoff gelb gefärbte Verbindungen gibt, die für photometrische Analysen verwendet werden können[1, 2].

In der vorliegenden Untersuchung wird die Bestimmung in salpetersaurer Lösung beschrieben.

Benutzte Reagenzien: Es fanden, bis auf das Tellur, nur Reagenzien zur Analyse, Riedel-de Haën, Verwendung.

Apparatur und Geräte: Für die photometrischen Messungen wurde das Gerät Elko II der Firma Carl Zeiss, Oberkochen, ausgerüstet mit Quecksilberbrenner, UV-Kondensor II und Filter S 38 E benutzt. Die Volumenmeßgefäße waren amtlich geeicht. Die Messungen fanden nahe bei 20° C statt, doch wurde kein Thermostat benutzt.

Abhängigkeit der Extinktion des Tellur-Thioharnstoffkomplexes von der Salpetersäurekonzentration und der Zeit.

100 mg feingepulvertes Tellur wurden mit konz. Salpetersäure gelöst, auf dem Wasserbad eingedampft, mit Wasser und 5 ml Salpetersäure (1,38) aufgenommen und auf 500 ml im Meßkolben aufgefüllt, so daß die Lösung 0,2 mg Te/je Milliliter enthielt.

Je 5 ml dieser Tellurlösung (entsprechend 1 mg Te) wurden mit 6 g Thioharnstoff und steigenden Mengen Salpetersäure (1,38) versetzt, im Meßkolben auf 50 ml aufgefüllt und in der 1 cm-Küvette 15 min bzw. 14 Std nach Reagenszugabe und Auffüllen gemessen.

Wie die Extinktionswerte (vgl. Tab. 1, S. 348) zeigen, müssen 5–10% konz. Salpetersäure (1,38) in der Analysenlösung vorliegen, um bei gleicher Tellurkonzentration gleichbleibende Extinktionswerte zu erhalten. Besonders vorteilhaft ist, daß die Extinktion auch über einen Zeitraum von mehreren Stunden keinen Schwankungen unterworfen ist.

Abhängigkeit der Extinktion von der zugegebenen Thioharnstoffmenge.

5 ml Tellurlösung wurden mit 3,5 ml Salpetersäure (1,38) und wechselnden Mengen Thioharnstoff versetzt, im Meßkolben auf 50 ml aufgefüllt und in den 1 cm-Küvetten gemessen. Die Ergebnisse zeigt Tab. 2 (S. 348).

Tab. 2 zeigt, daß die zu messende Lösung mindestens 10% Thioharnstoff enthalten muß, um von der Thioharnstoffkonzentration unabhängige Extinktionswerte zu erhalten.

Tabelle 1.

Prozent HNO_3 (1,38)	*E* nach 15 min	*E* nach 14 Std
0	0,508	0,505
5	0,518	0,516
8	0,518	0,520
10	0,520	0,520
12	0,502	0,502
15	0,450	0,450

Tabelle 2.
Abhängigkeit der Extinktion von der zugegebenen Thioharnstoffmenge bei Anwesenheit von 7% Salpetersäure (1,38).

Prozent Thioharnstoff	*E*
2	0,365
4	0,380
6	0,440
8	0,480
10	0,510
11	0,510
12	0,510

Aufstellung einer Eichkurve.

Aus den Tab. 1 und 2 geht hervor, daß bei der Analysenlösung 5—10% Salpetersäure (1,38) und 11% Thioharnstoff vorliegen müssen. Die Eichkurve wurde mit wechselnden Tellurmengen bei Anwesenheit von 7% Salpetersäure (1,38) und 11% Thioharnstoff erhalten. Die Meßreihe wurde sowohl gegen Wasser, als auch einen Blindansatz der Chemikalien ohne Tellurzusatz durchgeführt. Die Extinktionskoeffizienten zeigen mit steigender Tellurkonzentration ein Abfallen. Die Eichkurve ist gekrümmt, aber trotzdem für photometrische Zwecke gut brauchbar (Tab 3).

Tabelle 3. *Eichkurve, gemessen in einer 1 cm-Küvette.*

mg Te in 50 ml Lösung	*E* gegen H_2O	*E* gegen Blindlösung gemessen	Extinktionskoeffizient
0,40	0,222		0,555
0,80	0,442	0,440	0,552
1,20	0,610	0,607	0,508
1,60	0,770	0,770	0,485
2,00	0,945	0,940	0,472

Um die niederst noch bestimmbaren Tellurmengen festzustellen, wurde an weiteren Lösungen in den 5 cm-Küvetten gemessen. Die Ergebnisse enthält Tab. 4.

Tabelle 4. *Eichkurve, gemessen in einer 5 cm-Küvette.*

mg Te in 50 ml	*E*	Extinkt. Koeff.
0,05	0,228	0,91
0,075	0,302	0,80
0,10	0,364	0,73
0,20	0,648	0,65

Tabelle 5.

mm Schichtdicke	*E*	Extinkt. Koeff.
5	0,120	0,220
10	0,222	0,222
20	0,427	0,214
50	0,975	0,195

Wie die vorstehenden Meßwerte zeigen, läßt sich Tellur noch gut in einer Konzentration von 1 μg Te/ml photometrisch bestimmen.

Abhängigkeit des Extinktionskoeffizienten von der Schichtdicke.

Eine Analysenlösung mit 8 μg Te ml kam zur Messung in verschiedenen Küvetten mit steigender Schichtdicke (Tab. 5).

Der errechnete Extinktionskoeffizient hat mit steigender Schichtdicke fallende Werte, dies bedeutet, daß die Durchlässigkeitskurve der gelben Thioharnstoff-Tellurverbindung für die benutzte Meßstrahlung der Quecksilberliniergruppe bei 366 mμ, schon einen recht ungünstigen Verlauf nehmen muß.

Störmöglichkeiten.

Die Reaktion kann durch die Anwesenheit zahlreicher Kationen, wie z. B. Bi^{3+}, Sb^{3+}, Sn^{2+}, Pd^{2+}, Hg^{+}, Hg^{2+}, Os^{8+}, Rh^{3+}, Pt^{4+} und durch die Anionen SeO_3^{2-} und SeO_4^{2-} gestört werden. Es ist also erforderlich, das Tellur geeignet spezifisch vorher abzutrennen oder die Störelemente bzw. Verbindungen in geeigneter Weise zu maskieren.

Zusammenfassung.

Es wird gezeigt, daß Tellur in salpetersaurer Lösung bei Anwesenheit von 5—10% Salpetersäure (1,38) und 1% Thioharnstoff in einem Konzentrationsbereich von 1 μg Te ml bis 40 μg Te/ml photometrisch bestimmt werden kann. Hierzu wird das Gerät Elko II in Verbindung mit dem Quecksilberbrenner, UV-Kondensor II und Filter S 38 E benutzt. Die Auswertung der photometrischen Messungen erfolgt mit Eichkurven.

Literatur.

[1] Nielsch, W.: diese Z. **144**, 191 (1955). — [2] Nielsch, W., und G. Böltz: Z. Metallkunde **45**, 380 (1954); vgl. diese Z. **144**, 212 (1955).

Dr. W. Nielsch, Seelze/Hannover, Hannoversche Straße 33.

Bericht über die Fortschritte der analytischen Chemie.

III. Chemische Analyse organischer Stoffe.

1. Elementaranalyse.

Ein Halbmikrosystem für qualitative und quantitative Elementaranalysen wird von E. H. Swift und C. Niemann[1] beschrieben. Nach dem Aufschluß der Substanz (20—40 mg) in einer Mikro- oder Halbmikrobombe (Parr-Bombe) mit Na_2O_2, Lösen der Schmelze und Zersetzen des Peroxydüberschusses durch Kochen, alsdann nach Behandlung mit Hydrazin zwecks Reduktion von JO_3^- u. JO_4^- zu J^-, anschließender

[1] Analyt. Chemistry **26**, 538—543 (1954). Inst. Technol. Pasadena, Calif. (USA.).

Oxydation des Hydrazinüberschusses mit H_2O_2 und Zersetzung von dessen Überschuß durch Kochen werden ein Rückstand und eine Lösung gewonnen, die getrennt analysiert werden. Von dieser Behandlung der Analysensubstanz ausgehend sind folgende Möglichkeiten der Analyse gegeben: Qualitative und quantitative Bestimmung der Elementarbestandteile der Probe, die Erkennung anorganischer Verbindungen, die Erkennung funktioneller Gruppen in reinen, organischen Verbindungen sowie die Charakterisierung organischer Verbindungen auf Grund ihrer elementaren Zusammensetzung, ihrer physikalischen Eigenschaften, ihres Verhaltens bei funktionellen Gruppenreaktionen, ihres Abbaus zu und ihrer Synthese aus bekannten Verbindungen. — Das Analysensystem umfaßt etwa 32 Elemente, deren Trennungsmöglichkeiten und Chemismus in 13 umfassenden Tabellen übersichtlich angeordnet ist. Die umfangreichen Einzelheiten des ganzen Systems müssen dem Original entnommen werden. Th. Breyhan.

Schliffverbindungen aus Teflon (Polytetrafluoräthylen) zwischen dem C-H-Verbrennungsrohr und den Absorptionsröhrchen beschreibt W. Kirsten[1]. Sie gewährleisten eine dichte Verbindung ohne Fette und erlauben unmittelbare Wägung der Absorptionsröhrchen ohne vorheriges Reinigen. Die verjüngten Glasverbindungen der Absorptionsröhrchen werden mit feuchtem Eisen(III)-oxyd poliert[2].

H. Freytag.

Die Bestimmung von Deuterium in organischen Verbindungen führen M. Corval und R. Viallard[3] durch, indem sie die Substanz im Sauerstoffstrom nach dem Verfahren von H. ter Meulen[4] an MnO_2 als Katalysator verbrennen, das entstandene schwere Wasser in einer Kühlfalle sammeln, in reines Wasser von bekanntem spezifischen Gewicht destillieren und die Dichte der Mischung nach einer von R. Viallard[5] angegebenen Schwimmermethode bestimmen. Das Verhältnis D/(D + H) kann nach dieser Methode auf etwa $\pm 0{,}003$ genau festgestellt werden. Der zum Verbrennen dienende Sauerstoff muß sehr sorgfältig gereinigt werden, indem man ihn über den auf 400° C erhitzten Katalysator leitet, und H_2O sowie CO_2 in Anhydron und Ascarit absorbiert. Das Verbrennungsrohr für die zu untersuchende Probe enthält eine 10 cm lange MnO_2-Schicht, die auf 400—420° C erhitzt wird. Die Verbrennungsgase streichen durch eine mit Trockeneis gekühlte Falle, anschließend durch ein mit Anhydron gefülltes Kontrollrohr, in welchem etwa nicht kondensierte Wasserspuren zurückgehalten werden. Ein weiteres mit Ascarit gefülltes Rohr dient zur C-Bestimmung. Nach der Verbrennung wird das Rohr mit dem kondensierten Gemisch $D_2O + H_2O$ sorgfältig gewogen. Man destilliert dieses dann im Vakuum in eine bekannte Gewichtsmenge von bidestilliertem Wasser und ermittelt die Dichte. Das Verbrennungsverfahren wird sehr genau beschrieben. Es gibt je nach der verbrannten Substanz nur 1—4% zu niedrige Werte für das entwickelte Wasser, das offenbar von dem Katalysator zurückgehalten wird. Auf die Deuteriumbestimmung haben diese Verluste nur einen zu vernachlässigenden Einfluß.

A. Kurtenacker.

Kohlenstoff, Wasserstoff. *Das zur Absorption von Stickstoffoxyden verwendete Bleidioxyd bei der C-H-Bestimmung* nach Pregl ist nach Untersuchungen von

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1953**, 41—43. Univ. Uppsala (Schweden).

[2] Das mit Teflonverbindungen versehene Absorptionsgerät ist bei der Fa. Nicrona, Klara Vastra Krjekogata 7, Stockholm erhältlich.

[3] Mikrochim. acta (Wien) **1954**, 231—239. Faculté des Sciences, Service d'istopes Paris 1. rue Pierre Curie.

[4] Bull. Soc. chim. France [4] **49**, 1036 (1931).

[5] Bull. Soc. chim. France [5] **16**, 265 (1949).

F. R. Cropper[1] je nach der Art der Herstellung von recht unterschiedlicher Qualität. Die relative Aufnahmefähigkeit hängt hauptsächlich von der Größe der Primärteilchen des Bleidioxydpulvers ab. Manche besitzen wegen geringer Aufnahmefähigkeit für Stickstoffoxyde unter den Bedingungen, wie sie bei der Verbrennung nach Pregl herrschen, eine geringe Lebensdauer, andere wiederum geben falsche C-Werte trotz großer Aufnahmefähigkeit für Stickstoffoxyde. Ein *Bleidioxyd mit mittlerer Aufnahmefähigkeit* läßt sich nach folgender Methode herstellen. Man löst etwa 1 kg Bleiacetat bei 60° C in 1500 ml dest. Wasser, gibt 50—100 ml dieser Lösung langsam bei 60° C unter Rühren zu 500 ml etwa 40%iger Natriumhypochloritlösung, hält alles bei 60° C und fügt nach und nach wieder Bleiacetatlösung in 50 ml-Portionen zu, bis keine braune Fällung mehr erhalten wird. Weitere 500 ml der Natriumhypochloritlösung behandelt man ebenso, nimmt gegebenenfalls nochmals weitere 500 ml NaOCl-Lösung, bis alle Bleiacetatlösung verbraucht ist. Man dekantiert die überstehenden Flüssigkeiten, vereinigt die Fällungen, wäscht durch Dekantieren mit Wasser, filtriert schließlich und läßt das so gewonnene Bleidioxyd über Nacht vollkommen mit Salpetersäure (D 1,42) bedeckt stehen. Man dekantiert, hält alles mit neuer Salpetersäure mehrere Stunden auf dem Dampfbad, dekantiert und wascht mit destilliertem Wasser nach dem Abkühlen säurefrei (Kongorot als Indicator). Nach dem Filtrieren breitet man das PbO_2 auf einer Glasplatte aus, trocknet schließlich bei 130° C über Nacht, siebt zweimal (durch die Siebe „B. S. Nr. 10 und 36") und erhitzt schließlich in einem Glasrohr im Sauerstoffstrom von 5 ml/min 48 Std auf 175—180° C.

E. E. Archer[2] gibt zur *Kohlenstoffbestimmung in organischen Substanzen* eine Halbmikromethode an, die nach dem Prinzip der nassen Verbrennung arbeitet. Man läßt die Substanz (Kohlenwasserstoffe, aliphatische Carbonsäuren, Alkohole, Ketone, Halogen- und Schwefelverbindungen) mit dem von D. D. van Slyke und J. Folch[3] angegebenen Oxydationsmittel reagieren, fängt das gebildete CO_2 in Barytlauge auf und titriert mit 0,05 n Salzsäure unter Verwendung von Thymolphthalein und Bromphenolblau als Indicatoren. — *Ausführung.* Die etwa 5 mg Kohlenstoff enthaltende Probe wird mit 10 ml des Oxydationsmittels (siehe unten) in einem mit CO_2-freier Luft durchströmtem Kolben versetzt. Das sich entwickelnde CO_2 passiert ein mit einem Méker-Brenner erhitztes spiralförmig gebogenes Quarzrohr, in dem sich einige Stücke Silberdraht zur Entfernung von Halogen befinden, und gelangt in einem 500 ml-Büchner-Kolben, der mit einem Gummistopfen verschlossen ist und in welchem sich 20 ml 1,2%ige carbonatfreie Barytlauge befinden. Man erhitzt das Reaktionsgefäß 10 min, um das entstandene CO_2 quantitativ zu absorbieren, läßt 15 min abkühlen, schwenkt gelegentlich um und titriert mit 0,05 n Salzsäure. Für jede Charge Oxydationsmittel ist es nötig, eine Blindbestimmung durchzuführen. Man titriert zuerst gegen ein paar Tropfen 0,2%iger alkoholischer Thymolphthaleinlösung, fügt 1 ml 0,1%ige alkoholische Bromphenolblaulösung dazu und titriert auf rotgelbe Färbung. Die Differenz der beiden Titrationen ist der Blindwert für den Indicator, der normalerweise etwa 0,6 ml 0,05 n Salzsäure beträgt. Dieser Blindwert muß von den verbrauchten Milliliter Salzsäure bei der Berechnung subtrahiert werden. - Für trockene Saccharose ergeben sich zu kleine Werte, wäßrige Zuckerlösungen jedoch liefern gute Werte. Wäßrige Lösungen von anderen organischen Substanzen lassen sich gut bestimmen, wenn der Kohlenstoffgehalt nicht unter 0,5% liegt. — *Oxydationsreagens nach* van Slyke *und* Folch:

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 25—48. Imp. Chem. Industries Ltd., Manchester.

[2] Analyst. (London) **79**, 30—33 (1954). Distillers Co., Ltd., Great Burch, Epsom, Surr. (England).

[3] J. biol. Chemistry **136**, 509 (1940); vgl. auch diese Z. **132**, 146 (1951).

Man erhitzt ein Gemisch von 85 ml Schwefelsäure (D 1,85), 15 ml Phosphorsäure (D 1,75), 20 g Phosphorpentoxyd, 10 g Chromtrioxyd und 1 g Kaliumjodat auf 150° C, hält 2 min unter Rühren auf dieser Temperatur und läßt dann abkühlen.

K. Brodersen.

Eine Methode zur Verbrennung im Einschlußrohr zur Bestimmung von Kohlenstoff, Wasserstoff und Stickstoff wird von W. Kirsten[1] mitgeteilt. Organische Substanzen können in einem Einschlußrohr aus Quarz (ähnlich dem Carius-Rohr) in reinem Sauerstoff zusammen mit etwas Kupfer verbrannt werden, wobei Wasser, Kohlendioxyd und Stickstoff die gasförmigen Verbrennungsprodukte darstellen. Die Gase lassen sich entweder zur Isotopenanalyse im Massenspektrographen verwenden oder sie werden in der abgebildeten Apparatur (Abb. 1) analysiert. — In dieser Analyse evakuiert man den Apparat vollständig, senkt die Birne *G*, bis der Quecksilbermeniskus unter *C* steht. Dann wird das sich in dem Ansatz *C* befindliche Quarzröhrchen durch Betätigung der Gabel *D* zertrümmert. Die Birne wird gehoben, bis das Quecksilber in dem kalibrierten Rohr steht (Inhalt der Meßcapillare 0,2 ml) und das Gasvolumen und der Quecksilberdruck werden abgelesen. *G* wird gehoben, Hahn von *L* geöffnet und das Volumen bei Atmosphärendruck abgelesen. Nach Einsaugen von Kalilauge in *A* wird erneut abgelesen. Die erste Ablesung gibt den Wert für Wasser, Kohlendioxyd und Stickstoff, die zweite Kohlendioxyd und Stickstoff, die dritte den Stickstoffanteil. Einige Analysen mit 0,1—0,2 mg Substanz zeigen etwas schlechtere Ergebnisse als nach der Pregl-Methode. Die Füllung der Capillaren erfolgt nach Kirsten[2].

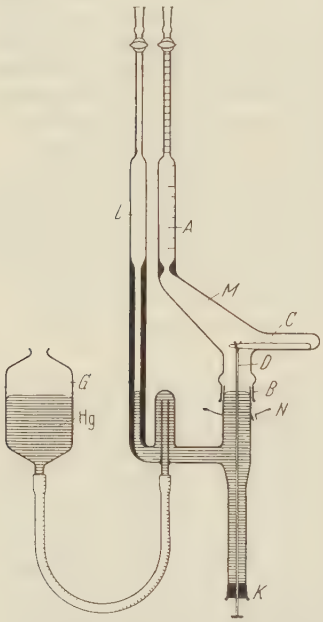

Abb. 1. Apparat zur Analyse der Verbrennungsgase nach Kirsten. *Hg* Quecksilberfüllung. *B* Schliffverbindung (Silicon) mit kräftigen Federn. *C* seitliches Rohr für die Quarzcapillare mit der Probe. *D* Glasgabel zum Zertrümmern. N Quecksilberfang. *G* Niveaubirne. *K* Gummistopfen mit Krönigs Glaskitt befestigt. *L* Vergleichsrohr. *M* Expansionsraum für Verbrennungsgase. Gesamtvolumen des graduierten Rohres 25 ml, Expansionsraum = 150 ml.

Th. Breyhan.

Stickstoff. *Die quantitative Bestimmung von organischem Stickstoff durch Flammenspektroskopie* wird von M. Honma und C. L. Smith[3] beschrieben. Die Verf. verwenden die Cyanbanden zum Nachweis des organisch gebundenen Stickstoffs und vergleichen die Intensität des CN-Bandenkopfes bei 3883 Å mit der des CH-Bandenkopfes bei 3890 Å, wobei der letztere die Rolle der Bezugssubstanz spielt. Die Verf. können auf dieser Grundlage Eichkurven aufstellen, die dann in üblicher Weise für die Auswertung der Analysenaufnahmen verwendet werden. Die Substanzen werden in einem besonders ausgebildeten Brenner mit Leuchtgas angeregt und geben dem inneren Kegel der Flamme die charakteristische Färbung, die dann spektrographisch aufgenommen wird. Es ist wichtig, ein verhältnismäßig energie-

[1] Analyt. Chemistry **26**, 1097 (1954). Univ. Uppsala (Schweden).
[2] Analyt. Chemistry **25**, 74 (1953).
[3] Analyt. Chemistry **26**, 458—462 (1954). State Univ., Iowa City, Iowa (USA).

armes Gas zu verwenden, um die Dissoziationsenergie des Luftstickstoffs nicht zu überschreiten und damit seine Anregung in der Flamme zu vermeiden. Als Lösungsmittel wird nach zahlreichen Vorversuchen Äthylalkohol verwendet. Bei geeigneter Einbringung in die Flamme können so feste, flüssige und gasförmige organische Stickstoffverbindungen durch die CN-Bande quantitativ bestimmt werden. Als Empfindlichkeitsgrenze geben die Verfasser 0,8 mg in 3 ml der Lösung an. Die Konzentrationsbereiche von 0,02—34,2% Stickstoff wurden untersucht. Der günstigste Arbeitsbereich liegt bei 0,1—15% Stickstoff. J. VAN CALKER.

Zur Stickstoffbestimmung nach DUMAS *in Zehntelmilligrammproben* beschreiben J. A. KUCK und P. L. ALTIERI[1] ein Azotometer (Abb. im Original), dessen Meßrohr in Mikroliter geteilt ist, bei einem Totalinhalt von 0,2 ml, so daß man Zehntelmikroliter noch zu schätzen vermag. Die Einwaagen von 0,1—0,4 mg Probe nimmt man mit der GARNER-Mikrowaage vor. Das Verbrennungsrohr aus Quarz wird nach PREGL-ROTH gefüllt, doch sind die Schichtlängen passend abgeändert. Die Einwaagen erfolgen im Platinschiffchen. Als Öfen werden die automatischen vom FLASCHENTRÄGER-Typ mit Platindrahtwicklungen benutzt. Der lange Brenner wird auf 800° C eingestellt, der kurze bewegliche Ofen wird auf 880° C gebracht. Das Kohlendioxyd wird im KIPP-Apparat aus reinem Calcit statt aus Marmor erzeugt. Der stetige Blindwert entspricht dann Mengen von $8 \cdot 10^{-3}$ ml für je 100 ml CO_2, die durch die Apparatur des Azotometer geströmt sind. Das Kohlendioxyd wird vom Chlorwasserstoffgas mit gesättigter Natriumhydrogencarbonatlösung befreit. Der mittlere Fehler einer Einzelbestimmung (aus 10 Azobenzolanalysen) wurde bei 0,4 mg-Einwaagen zu $\pm$ 0,28% Stickstoff, zu $\pm$ 0,96% Stickstoff bei 0,1 mg-Proben gefunden. Verbesserungen erscheinen möglich. H. FREYTAG.

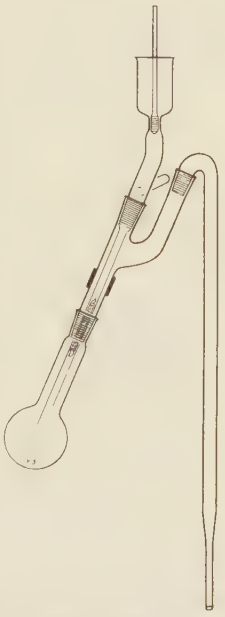

Abb. 1. Apparat zur Stickstoffbestimmung nach SCANDRETT.

F. J. SCANDRETT[2] führt die *Mikrostickstoffbestimmung* nach KJELDAHL in dem einfachen, ganz aus Glas bestehenden Apparat der Abb. 1 aus. Die Substanz wird in dem 100 ml fassenden Kjeldahlkolben aufgeschlossen, dann läßt man 40%ige Natronlauge aus der becherförmigen Erweiterung zufließen und destilliert das Ammoniak mit überhitztem Wasserdampf, den man der Laboratoriumszuleitung entnimmt, über. Der Wasserdampf tritt durch die Abzweigung unterhalb des Laugenbehälters in den Apparat ein. Ein 9 cm langes Rohr aus Borglas, das unten verjüngt ist, dient als Luftkühler und taucht in die Standardsäure. Für 0 -2 mg Stickstoff werden 10 ml 0,0143 n Schwefelsäure vorgelegt und man titriert mit 0,0143 n Natronlauge zurück. Der Indicator besteht aus 3 Teilen 0,1%iger alkoholischer Bromkresolgrünlösung und 1 Teil 0,2%iger alkoholischer Methylrotlösung. BARBARA GRÜTTNER.

Nach R. B. BRADSTREET[3] eignet sich *zur Stickstoffbestimmung in Nitroverbindungen nach* KJELDAHL besonders gut der Zusatz eines Gemisches aus gleichen Teilen *α-Naphthol und Pyrogallol*, um die Nitrogruppen in eine leicht reduzierbare

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 17—24. Amer. Cyanamid Co., Stamford. Conn.
[2] Analyst (London) **78**, 734—737 (1953). Univ. Edinburgh (Schottland).
[3] Analyt. Chemistry **26**, 235—236 (1954). Bradstreet Lab., Hillside, N. J. (USA).

Form zu bringen. Es werden so stets bessere Ergebnisse als nach älteren Verfahren erhalten. Auch gegenüber der Methode von Ph. McCutchan und W. F. Roth[1], die sich der Thiosalicylsäure bedient, ist eine Verbesserung zu beobachten. – *Ausführung.* In einen Kjeldahlkolben wägt man 0,10—0,15 g Probe ein, fügt 35 ml konzentrierte Schwefelsäure die 1 g des Pyrogallol-1-Naphtholgemisches (1:1) enthält, zu und beläßt $^1/_2$ Std auf dem Dampfbad oder solange, bis sich die Probe völlig gelöst hat. Nach Zugabe von 5 g Natriumthiosulfat läßt man wieder eine halbe Stunde stehen und erhitzt dann leicht bis zum Verkohlen. Man kühlt ab, versetzt mit 18 g Kaliumsulfat und 0,25 g Mischkatalysator (Eisen(II)-sulfatheptahydrat + Selen) und erhitzt stark bis zum Klarwerden der Reaktionslösung, worauf noch 1 Std lang leicht gekocht wird. Nach Abkühlung und Verdünnen mit Wasser bestimmt man den Stickstoff wie üblich. H. Freytag.

Die Bestimmung von Stickstoff in organischen Verbindungen führt K. Dvořák[2] durch doppelte Verbrennung in der etwas veränderten Methode nach W. Zimmermann[3] durch. – *Arbeitsvorschrift.* Man bringt 4—6 mg der im Schiffchen mit feinem CuO bedeckten Probe in das Verbrennungsrohr, das mit 6 cm grobem und 1 cm feinem CuO gefüllt ist. Dann verschüttet man das Schiffchen mit 8 cm grobem Kupferoxyd und vertreibt wie üblich die Luft aus der Apparatur mit CO_2. Nach

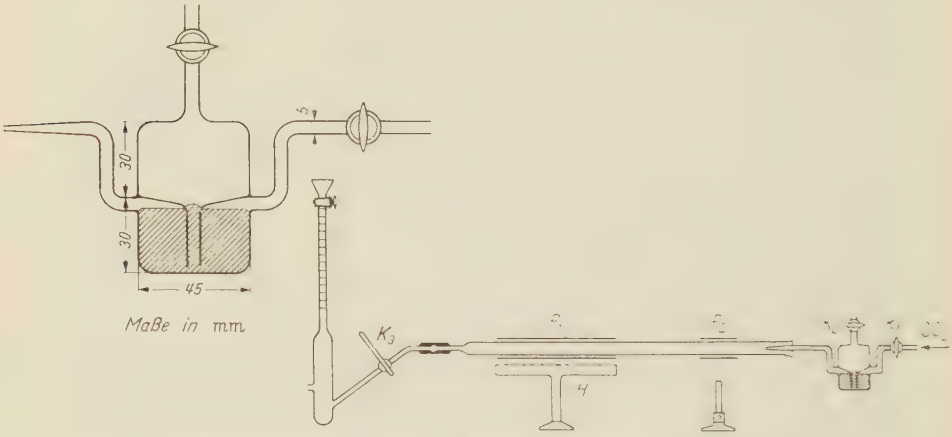

Abb. 2. Auffanggefäß für die verbrannten Gase bei der Stickstoffbestimmung nach Dvořák.

Abschalten der Kohlendioxydzufuhr und des Azotometers verbrennt man die Probe bei heller Rotglut und fängt die Reaktionsprodukte über Quecksilber im Gefäß der Abb. 2 auf, was etwa 5 min dauern soll. Dann drückt man mit einer Geschwindigkeit von 3—4 Blasen/sec das gebildete Gas mit CO_2 durch das heiße Verbrennungsrohr in das Azotometer und liest die Stickstoffmenge nach 20 min in üblicher Weise ab. Dabei liegen die Fehlergrenzen innerhalb der gewohnten Grenzen. Die Dauer der Bestimmung ist 25 min. H. Kurtenacker.

Für das Mikrobestimmungsverfahren von Stickstoff in organischen Substanzen nach Unterzaucher beschreiben F. R. Cropper, R. H. Reed und R. Rothwell[4]

[1] Analyt. Chemistry **24**, 369 (1952); vgl. diese Z. **137**, 378 (1952/53).
[2] Chem. Listy **47**, 1093—1094 (1953) [Tschechisch]. Akad. Wissenschaft., Prag.
[3] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **31**, 42 (1943).
[4] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 223—225. Imp. Chem. Ind., Ltd., Manchester.

einen einfachen elektrolytischen Sauerstofferzeuger und einen Strömungsmesser, die eine genaue Dosierung der Zufuhr von Sauerstoff und Kohlendioxyd während der Verbrennung ermöglichen. Dadurch werden Schwierigkeiten bei der Durchführung der Stickstoffbestimmung weitgehend ausgeschaltet. — Die elektrolytische Zelle (Abb. 3) hat 2 in m Schwefelsäure tauchende Platindrahtelektroden. Man reguliert den einer 6 Volt-Batterie entnommenen Strom auf 0,2 A ein, so daß 0,7 ml

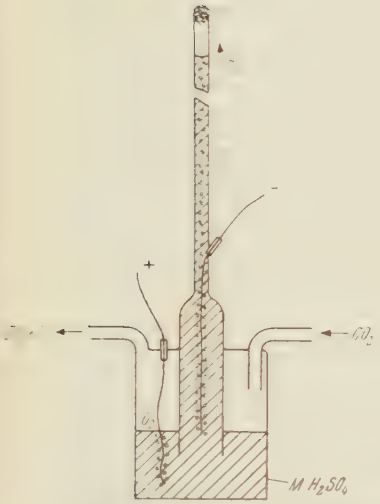

Abb. 3. Elektrolytischer Sauerstoffentwickler nach CROPPER, REED und ROTHWELL.

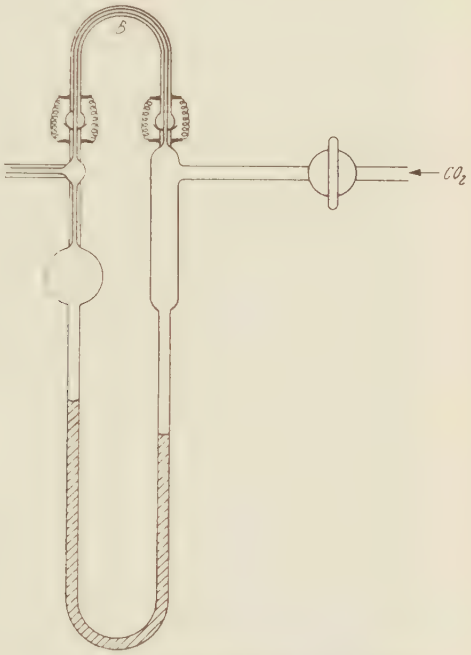

Abb. 4. Strömungsmesser nach CROPPER, REED und ROTHWELL.

Sauerstoff je Minute erzeugt werden. Der als schmale Flüssigkeitssäule ausgebildete Kathodenraum dient zur Ableitung des Wasserstoffs und sorgt außerdem für einen gleichmäßigen Gasdruck. Der erzeugte Sauerstoff wird vom durchströmenden Kohlendioxyd mitgeführt. Spuren von Wasserstoff, die sich auf dem Wege durch die Flüssigkeit dem Sauerstoff beimengen könnten, werden im Verbrennungsrohr zu Wasser oxydiert und erzeugen daher keinen Blindwert im Azotometer. Der einfache, dem bekannten RIESENFELD-Gerät nachgebildete Strömungsmesser (Abb. 4) befindet sich zwischen dem CO_2-Entwickler aus Trockeneis und der elektrolytischen Zelle. Durch Verwendung passender Capillarschläuche kann man die durchströmende Gasmenge in den gewünschten Grenzen halten. Zum Beschicken des Strömungsmessers dient angefärbtes Silicon DC 200. TH. BREYHAN.

Sauerstoff. W. SCHÖNIGER[1] beschreibt einen elektrischen Ofen mit automatischer Temperaturregulierung für die *Sauerstoffbestimmung nach* UNTERZAUCHER. Der Ofen ist mit 2 Heizwicklungen aus Kanthal A 1-Band[2] versehen

[1] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 320—326. Sandoz A.G., Basel (Schweiz).

[2] Vgl. W. KIRSTEN: Analyt. Chemistry **25**, 805 (1953); vgl. diese Z. **142**, 68 (1954).

und wird mit 36 V betrieben. Zu dem Ofen ist eine Hilfsheizung parallel geschaltet, deren Temperatur mittels eines Ausdehnungsstabes über ein Relais konstant gehalten wird. Der Ofen behält auf mindestens $^2/_3$ seiner Länge die für die Sauerstoffbestimmung geforderte Temperatur von 1120° C mit sehr geringen Schwankungen andauernd bei. A. KURTENACKER.

Über die Ergebnisse einer Gemeinschaftsarbeit verschiedener Laboratorien zur direkten *Bestimmung kleiner Sauerstoffgehalte* (0,01–1,0%) in organischen Verbindungen berichtet W. H. JONES[1]. Die bisher angewandte Methode von M. SCHÜTZE[2] und J. UNTERZAUCHER[3], beruhend auf der Verbrennung des Sauerstoffs mit Kohlenstoff zu Kohlenmonoxyd und der Verbrennung dieses mittels Jodpentoxyd bewirkt bei kleinen Sauerstoffgehalten Fehler durch pyrolytisch freigesetzten Wasserstoff und dessen Einwirkung auf das Jodpentoxyd. Es wurden vier Modifikationen der ursprünglichen UNTERZAUCHER-Methode angewandt, mit welchen sehr kleine Blindwerte erhalten werden und die eine bedeutende Verbesserung der Analysenwerte ergeben, beruhend auf manometrischen, titrimetrischen und gravimetrischen Bestimmungen an reinen Kohlenwasserstoffen wie Cetan, n-Octylalkohol, um den Blindwert zu bestimmen. Die vier Modifikationen bestehen in a) der Oxydation des Monoxyds durch CuO bei 300° C und der manometrischen Messung[4], b) der Bindung des erzeugten Dioxyds durch 0,05 n Natronlauge und Rücktitration nach Zusatz von $BaCl_2$ mit 0,025 n Salzsäure[5], c) der Bindung des freigesetzten Jods an festes $Na_2S_2O_3$ und gravimetrische Bestimmung des Kohlendioxyds[6] und d) der Entfernung des freigesetzten Wasserstoffs durch Diffusion durch Palladium bei 350° C, anschließende Oxydation des Monoxyds durch J_2O_5 und der Titration des freigesetzten Jods durch Thiosulfat[7]. A. SCHLEICHER.

I. J. OITA und H. S. CONWAY[8] berichten über *Verbesserungen der Sauerstoffbestimmung* nach SCHÜTZE-UNTERZAUCHER. Die für die Überführung des Sauerstoffs in Kohlenoxyd bei der SCHÜTZE-Methode notwendige Temperatur von 1120° C wird herabgesetzt und die durch die gelegentliche Anwesenheit von Schwefel verursachten Fehler werden eliminiert. — Ausgehend von einer laut Mitteilung von P. J. ELVING[9] beobachteten Wirkung von Kupfer-Kohlenstoffmischungen auf die Überführung von Sauerstoff in Kohlenoxyd bei Temperaturen unter 1120° C werden Metall-Kohlenstoffmischungen erprobt, wobei es sich zeigt, daß ein Gemisch gleicher Teile Platin und Kohlenstoff schon bei 900° C gute Sauerstoffwerte liefert. Liegen schwefelhaltige Verbindungen vor, so bilden sich geringe Mengen von CS_2 und COS, die durch Reaktion mit dem Jodpentoxyd unter CO_2-Bildung zu hohe Werte liefern. Wird eine Falle mit flüssigem Stickstoff benutzt (SCHÜTZE-Methode), so werden die beiden Verbindungen aus dem Gasstrom entfernt und es werden zu

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1449–1452 (1953). Standard Oil Co, Baton Rouge, Wa.

[2] Diese Z. **118**, 245 (1939/40).

[3] Ber. dtsch. chem. Ges. **73**, 391 (1940).

[4] HOLOWCHAK, J., and G. E. C. WEAR: Analyt. Chemistry **23**, 1404 (1951); J. J. NAUGHTON and M. M. FRODYMA: Analyt. Chemistry **22**, 711 (1950); vgl. diese Z. **135**, 73 (1952).

[5] HINKEL, R. D., and R. RAYMOND: Analyt. Chemistry **25**, 470 (1953); vgl. diese Z. **143**, 65 (1954).

[6] DUNDY, M., and E. STEHR: Analyt. Chemistry **23**, 1408 (1951).

[7] CAMPANILE, V. A., J. H. BADLEY, E. D. PETERS, E. J. AGAZZI and F. R. BROOKS: Analyt. Chemistry **23**, 1421 (1951); vgl. diese Z. **143**, 65 (1954).

[8] Analyt. Chemistry **26**, 600–602 (1954). Standard Oil Co. (Indiana), Whiting, Ind.

[9] Vgl. in V. A. ALUISE u. Mitarb., Analyt. Chemistry **23**, 530 (1951).

niedrige Werte erhalten da das COS einen Teil des zu erfassenden Sauerstoffs enthält. Zur Zersetzung des CS_2 sowie des COS wird der den platinierten Kohlenstoff verlassende Gasstrom zuerst über Kupfer bei 900° C und dann über Ascarit geleitet. Auf diese Weise werden auch bei Vorliegen von schwefelhaltigen Substanzen gute Sauerstoffwerte erhalten. — Die Arbeit bringt eine schematische Abbildung der erforderlichen Apparatur mit eingehender Beschreibung. Th. Breyhan.

Schwefel. M. Večeřa[1] empfiehlt *zur Schwefelbestimmung in organischen Substanzen* das Verfahren von F. Zinnecke[2], das er in Einzelheiten so abändert, daß es noch für Einwaagen von 1—3 mg Probe genaue Resultate liefert. An Stelle des Silberdrahtnetzes zum Binden der Schwefeloxyde verwendet Verf. ein 100 mm langes Absorptionsrohr aus Quarz, das mit Silberspänen gefüllt ist. Es ist an einem Ende durch Glasschliff mit dem Verbrennungsrohr verbunden und endet am anderen Ende in eine Capillare, die so dimensioniert ist, daß das Wasser, mit dem das gebildete Silbersulfat extrahiert wird, nur abtropft. Salpetersäure, die bei der Verbrennung stickstoffhaltiger Substanzen entstehen kann, kondensiert sich im kalten Teil des Verbrennungsrohres und kommt nicht an das Silber. Die Silber-Ionen im wäßrigen Auszug werden potentiometrisch mit 0,01 n KJ-Lösung an einer Indicatorelektrode aus Silber titriert. Als Vergleichselektrode dient die gesätt. Kalomelelektrode, als Brücke eine 5%ige KNO_3-Lösung. Der Potentialsprung beträgt etwa 300—320 mV. Das Absorptionsrohr soll auf 450° C gehalten werden. Bei niedrigerer Temperatur ist die Absorption unvollständig, bei höherer besteht die Gefahr der Zersetzung des Silbersulfats. Das Verfahren ist sehr allgemein anwendbar. Verf. benutzte es mit Erfolg für Stoffe, die außer Schwefel Stickstoff, Halogene (auch Fluor), P, Hg und Alkalimetalle enthielten. Die letzten werden unter Zusatz von V_2O_5 verbrannt[2]. Die Analyse von Ag-, Pb- oder Ba-haltigen Proben gelingt nicht. Hochschwefelhaltige Substanzen (Tetraäthylthiuramdisulfid, Diäthylsulfid), die auf andere Art schwer zu analysieren sind, geben genaue Werte. — Zur Ausführung der Verbrennung leitet man durch die Apparatur einen Sauerstoffstrom von 10 ml/min, erhitzt das Absorptionsrohr mit Silberspänen auf 450° C, das Verbrennungsrohr auf 650 bis 750° C. Hierauf führt man das Schiffchen ein, dessen Inhalt binnen 10—20 min in üblicher Weise mit Hilfe eines darunter gestellten Brenners verbrannt wird. Das Rohr glüht man weiter 5—10 min aus. Dann nimmt man das Absorptionsrohr ab, setzt ein neues an und bereitet die Apparatur so für eine neue Bestimmung vor. Die Extraktion des Absorptionsrohres erfolgt mit heißem Wasser 10mal in Mengen von je 5 ml. Die Lösung läßt man direkt in das 250 ml-Titrationsgefäß tropfen. Die Titration erfolgt in üblicher Weise unter magnetischem Rühren möglichst unter Ausschluß von Licht. H. Freytag.

B. Warshowsky, T. E. Shook und E. J. Schantz[3] haben *zur Schwefelbestimmung in organischen Stoffen* an die Verbrennung in der Parr-Bombe eine Fällung mit überschüssigem Bariumsalz angeschlossen und den Bariumüberschuß mit Kaliumchromat amperometriert. — 8—12 mg der Probe (1—5 mg Schwefel enthaltend) werden mit 50 mg Benzoesäure, 100 mg Natriumperchlorat und 1,5 g Natriumperoxyd gemischt in der Parr-Bombe verbrannt. Nach dem Abkühlen wird in 20 ml heißem Wasser aufgenommen und zur Zersetzung der Peroxyde 5 min gekocht. Durch weiteres Kochen während 2 min mit 5 ml Hypochloritlösung (Einleiten von Chlor in 5%ige Natronlauge) wurden Peroxydreste sicher entfernt.

[1] Chem. Listy **48**, 613—616 (1954) [Tschechisch]. Forsch.-Inst. f. organische Synthesen, Pardubice-Rybitví.

[2] Diese Z. **132**, 175 (1951).

[3] Analyt. Chemistry **26**, 1051—1053 (1954). Chem. Biolog. Labor., Camp Detrick, Frederick, Md. (USA).

Dann wird mit konz. Salzsäure (etwa 7 ml) tropfenweise angesauert und nach dem Abkühlen auf 50 ml aufgefüllt. 20 ml der Lösung werden 5 min im siedenden Wasserbad vorgewärmt mit 10 ml 0,01 m Bariumchloridlösung gefällt. Man läßt 20 min stehen, kühlt ab und stellt mit 10%iger Natronlauge auf p_H 6 (Methylrot) ein. Nach Zugabe von 30 ml Äthanol kann mit Stickstoff durchlüftet (5 min) und die Amperometrie bei 1,35 V mit 0,01 m Kaliumchromatlösung vorgenommen werden. Nach jeder Zugabe wird 2 min mit Stickstoff behandelt. Zur Auswertung muß, um Salzeffekte auszuschalten, mit einer Blindprobe verglichen werden. Zu Mikrotitrationen wird jeweils der zehnte Teil der Mengen verwendet. An Testproben Cystin und Sulfanilamid wird der Fehler zu −1,5 bis −1,8% festgestellt.

K. Cruse.

Nach P. N. Fedoseev und R. M. Lagošnaja[1] bestimmt man *Schwefel in organischen Substanzen und Brennstoffen* nach dem bekannten Verfahren der Verbrennung in Gegenwart von aktivem Chrom(III)-oxyd als Katalysator[2]. Die Verbrennungsprodukte werden in einer geschlossenen, evakuierten und eine Mischung von 25 ml 0,1 n Alkalilauge und 2—3 ml 3%igem Wasserstoffperoxyd enthaltenden, dickwandigen Glasflasche aufgefangen. Bei der Verbrennung im Sauerstoffüberschuß und in Gegenwart des Katalysators erfolgt eine 100%ige Bildung von SO_3. Die Verbrennung wird in Glas- oder Quarzröhren mit einem Durchmesser von 16—20 mm und 550—750 mm Länge vollzogen. 0,1—0,2 g (bei Brennstoffen 0,6—0,8 g) der zu untersuchenden Substanz werden in einem Porzellanschiffchen eingewogen, mit dem Katalysator bestreut und in 5—6 min in Sauerstoffstrom mit 150—350 ml/min bei 750—850° C verbrannt. Die aus SO_3 entstandene Schwefelsäure wird titrimetrisch oder gravimetrisch bestimmt. Verf. haben mit großer Genauigkeit (± 0,1—0,3%) den S-Gehalt in verschiedenen Steinkohlen, Sulfosalicylsäure, n-Toluolsulfamid, Thiosemicarbazid u. a. bestimmt. Die Methode erlaubt Stoffe mit großem und kleinem Schwefelgehalt zu untersuchen.

Martha Wildau.

Zur Schwefelbestimmung in Abwesenheit von Halogenen in organischen Substanzen haben J. A. Kuck und E. C. Grim[3] eine *Mikromethode* ausgearbeitet, die ähnlich wie die Methoden von E. W. D. Huffman[4], R. Belcher und C. Spooner[5], G. L. Stragnand und H. W. Safford[6], F. Zinnecke[7] und M. O. Koršun und N. S. Ševeleva[8] die Absorption des nach der Verbrennung gebildeten SO_3 durch metallisches, fein verteiltes *Silber* zur Grundlage hat. Es wird die Gewichtszunahme eines Silberdrahtnetzes direkt gemessen. Die Abwesenheit von Halogenen und Alkalimetallen ist Voraussetzung für die Anwendbarkeit der Methode. Die Genauigkeit beträgt bei mg-Einwaagen ± 0,5—1%. Kleinere Schwefelmengen als 53—133 μg lassen sich so nicht bestimmen. Bei Schwefelmengen zwischen 133 bis 267 μg verwendet man eine im Original beschriebene verkleinerte Verbrennungsapparatur und die Garner-Quarzfadenwaage[9]. Verbrannt wird im Sauerstoffstrom von etwa 60 ml/min.

K. Brodersen.

[1] Ž. anal. Chim. **9**, 37—41 (1954) [Russisch]. Inst. Schiffsbau, Nikolaevsk.

[2] Vgl. Fedoseev, P. N., u. M. M. Pavlenko: Ž. anal. Chim. **6**, 317 (1951); **8**, 158 (1953); vgl. diese Z. **136**, 152 (1953); **142**, 69 (1954).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 201—210. Amer. Cyanamid Co., Stamford, Conn.

[4] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **12**, 53 (1940); vgl. diese Z. **123**, 30 (1942).

[5] J. chem. Soc. (London) **1943**, 313.

[6] Analyt. Chemistry **21**, 625 (1949); vgl. diese Z. **132**, 299 (1951).

[7] Diese Z. **132**, 175 (1951).

[8] Ž. anal. Chim. **7**, 104 (1952); vgl. diese Z. **140**, 297 (1953).

[9] Kuck, J., P. Altieri und A. Towne: Mikrochim. acta (Wien) **1953**, 254.

Für die Bestimmung von Schwefel und Barium in organischen Bariumsulfonaten (z. B. in Bariumligninsulfonaten) empfehlen F. E. Brauns, J. B. Hlava und H. Seiler[1] ein *Ionenaustauschverfahren* mit dem Kationenaustauscher Amberlite IR 120. Die Sulfosäure geht in das Filtrat, während Barium quantitativ vom Austauscher zurückgehalten wird. Die Elution gelingt nur mit starker (10—25%iger) Salzsäure. Um den Elutionsweg abzukürzen, läßt man die Säure in umgekehrter Richtung durch die Säule strömen. Sie trifft dann erst auf dem letzten Stück des Weges auf die Bariumbelegung. Zur bequemen Durchführung dieser Elution verwenden die Verf. eine kippbare Säule[2]. *Ausführung.* Die Austauschersäule wird 15 cm hoch mit Amberlite IR 120 gefüllt. Vor Gebrauch läßt man 75 ml 15%ige Salzsäure durchfließen und wäscht dann mit Wasser bis zur neutralen Reaktion. Zur Analyse läßt man die Lösung von 0,15—0,18 g Probe in 75 ml Wasser mit der Geschwindigkeit von 8—10 Tropfen je Minute durch die Säule fließen und sorgt dafür, daß die Oberfläche der Säule stets mit Flüssigkeit bedeckt bleibt. Man spült 3 mal mit je 25 ml Wasser nach und wäscht mit weiteren 75 ml Wasser. Die in einem Kjeldahl-Kolben gesammelten Filtrate engt man nach Zusatz von etwas Natriumnitrat auf etwa 5 ml ein, versetzt mit 25 ml rauchender Salpetersäure und 5 ml Perchlorsäure und verdampft wieder auf 5 ml. Die Lösung muß nun klar sein, sonst wird die Behandlung wiederholt. Man versetzt die klare Lösung mit 25 ml konz. Salzsäure, erhitzt bis zum Ausbleiben gelber oder brauner Dämpfe, engt auf 5 ml ein und bestimmt das Sulfat wie üblich als Bariumsulfat. — Zur *Bariumbestimmung* kehrt man die Säule um, eluiert mit 75 ml, dann zweimal mit 25 ml und noch einmal mit 75 ml 12%iger Salzsäure, konzentriert das Eluat auf 50 ml, fällt mit Schwefelsäure und wägt schließlich als $BaSO_4$. — Die Resultate stimmen auf etwa 0,2% S oder Ba bei Gehalten von 10—29%. A. Kurtenacker.

Schwefel und Halogene. *Zur Bestimmung von kleinen Mengen in organischen Flüssigkeiten, z. B. Erdölfraktionen*, teilen P. Gouverneur und H. van Dijk[3] einen Kunstgriff zur sicheren Verbrennung von größeren (5 g) Substanzeinwaagen mit. Aus einer Wägepipette lassen sie die Flüssigkeit in ein Injektorrohr tropfen, das weit in ein Quarzverbrennungsrohr hineinragt und dort mit seiner spitzen Öffnung dicht über einem Porzellanschiffchen endet. Ein Luftstrom von 450 l/Std, der durch Erhitzen auf 1000° C in einem mit Quarzscherben gefüllten Quarzrohr und Durchleiten durch 2 Waschflaschen mit 10%iger Natronlauge bzw. 1,5%iger Wasserstoffperoxydlösung gereinigt wird, treibt mit einem Teilstrom die Flüssigkeit durch den Injektor in das Porzellanschiffchen, das durch eine das Quarzrohr außen umgebende elektrische Heizwicklung über den Siedepunkt der Flüssigkeit erwärmt wird. Die Flüssigkeit verdampft augenblicklich, verdünnt sich durch einen den Injektor umspülenden zweiten Teilstrom der gereinigten Luft und wird in dem hinteren, durch eine Quarzlochscheibe und ein Platindrahtnetz abgeteilten und auf 1000° C erhitzten Quarzrohr verbrannt. Die Verbrennungsgase durchströmen eine der bekannten Absorptionsvorlagen mit Glasfrittenplatte, die zur Schwefelbestimmung mit 3%iger Wasserstoffperoxydlösung, zur Halogenbestimmung mit einer Mischung von 3%iger Wasserstoffperoxyd- und 2%iger Sodalösung (3:1) gefüllt ist. Die weitere Bestimmung erfolgt nach bekannten Methoden. Eine Verbrennung von 5 g Substanz dauert nur 20—30 min. Wegen Einzelheiten der Versuchsanordnung (5 Abb.) und Durchführung muß auf das Original verwiesen werden. F. Neumann.

[1] Analyt. Chemistry **26**, 607—608 (1954). Inst. of Paper-Chemistry, Appleton, Wis.

[2] Ähnliche Einrichtungen vgl. R. Wickbold, diese Z. **132**, 324 (1951); R. Klement, diese Z. **136**, 19 (1952).

[3] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **9**, 59—65 (1953). Koninkl. Shell-Lab., Amsterd.

Th. T. White, C. J. Penther, Ph. C. Tait und F. R. Brooks[1] entwickeln *für die Bestimmung von Schwefel und Halogen in organischen Verbindungen einen automatischen Verbrennungsapparat*, in welchem die Probe (0,2—1 g) in einem horizontalen Quarzrohr im Stickstoffstrom rasch verdampft wird. In dem auf 1000° C erhitzten Teil des Verbrennungsrohrs werden die Dämpfe mit überschüssigem Sauerstoff gemischt, der an dieser Stelle in die Röhre eingeleitet wird. Es entsteht eine intensive Flamme, deren Temperatur mit Thermoelement gemessen wird. Zwischen der Flammentemperatur und dem Betrag der Verdampfung der Probe besteht eine direkte Beziehung, die dazu benutzt wird, um durch die Temperatur den Verdampfungsgrad zu kontrollieren. Das Thermoelement schaltet mit Hilfe von Verstärker und Relais die Heizvorrichtung aus und einen kühlenden Luftstrom ein oder schaltet die Heizung ein und den Luftstrom aus, je nachdem die Temperatur einen Kontrollwert über- oder unterschreitet. Nach etwa 5 min, wenn die Verdampfung zu Ende ist, wird volle Hitze eingestellt und der Sauerstoffstrom gleichzeitig über das Schiffchen geleitet, um alle kohligen Rückstände zu verbrennen. 2 min später wird automatisch der ursprüngliche Zustand hergestellt, womit der Ofen für die nächste Probe bereit ist. Zur Schwefelbestimmung werden die Verbrennungsgase in 1,5%ige H_2O_2-Lösung geleitet. Die entstandene Schwefelsäure wird mit Lauge titriert. Zur Halogenbestimmung leitet man die Gase durch 2,5%ige Na_2CO_3-Lösung und titriert das Halogen-Ion schließlich nach Volhard[2]. Nach den mitgeteilten Analysen stimmen die Werte auf 1% relativ oder besser, wenn 5% Schwefel oder Halogen zu bestimmen sind. Für kleine Gehalte liegen die Abweichungen bei etwa 3%. — Die Originalarbeit enthält mehrere Abbildungen und Schaltskizzen der Apparatur.

Die mikroanalytische Bestimmung von Schwefel und Chlor oder Brom nebeneinander in organischen Substanzen kann nach W. Schöniger[3] ausgeführt werden, indem man die Probe mit Magnesiumpulver aufschließt, den erhaltenen Sulfidschwefel nach Austreiben als H_2S und Absorption in Cadmiumacetatlösung jodometrisch bestimmt und das Halogen-Ion in der von H_2S befreiten Lösung mit Silbernitratlösung nach Volhard titriert. Die nach dem Verfahren erhaltenen Resultate weichen um etwa ±0,1—0,2% vom Sollwert ab. — Zum Aufschluß dienen die von W. Zimmermann[4] angegebenen Aufschlußröhrchen. Man mischt die Einwaage von 3—5 mg in dem Röhrchen mit einer 3—4 mm hohen Schicht von Magnesiumpulver, setzt bei heftig reagierenden Substanzen etwas MgO zu, schichtet mit Magnesiumpulver zu einer Gesamthöhe von 30 mm auf und zieht das Röhrchen am oberen Ende zu einer 80—100 mm langen Capillare aus. Dann erhitzt man am Ende der Mg-Schicht über einer rauschenden Mikrobrennerflamme zur Rotglut, schreitet mit dem Erhitzen allmählich gegen die Substanz vor, derart, daß der Aufschluß in ungefähr 4—5 min beendet ist. Hierauf verschmilzt man die Capillare. *Die Bestimmung von Schwefel* erfolgt mit Hilfe des Destillationsapparates von Zimmermann[4], den der Verf. etwas abgeändert hat. Am Aufschlußröhrchen wird die Capillare abgebrochen, das Röhrchen an 2 Stellen angeritzt, das obere Drittel wird abgesprengt, die beiden unteren Teile werden im Zersetzungskölbchen durch Schütteln zum Auseinanderfallen gebracht. Man schließt an den Destillationsapparat an, beschickt die Absorptionsvorlage mit 10 ml gepufferter Cadmium-

[1] Analyt. Chemistry **25**, 1664—1668 (1953). Shell Developm. Co., Emeryville, Calif.

[2] Vgl. E. D. Peters, G. C. Rounds and E. J. Agazzi: Analyt. Chemistry **24**, 710 (1952); vgl. diese Z. **138**, 286 (1953).

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 74—80. Univ. Graz.

[4] Mikrochem. verein. Mikrochim. Acta **31**, 15 (1943); **33**, 122 (1946); **35**, 80 (1950); **40**, 162 (1953); vgl. diese Z. **131**, 59 (1950); **132**, 300 (1951); **143** 366 (1954).

acetatlösung (50 g krist. Salz + 400 g krist. Natriumacetat + 1000 ml Wasser), verdrängt die Luft aus der Apparatur mit N_2 oder CO_2, stellt den Gasstrom ab und läßt Schwefelsäure (1:3) allmählich in den Zersetzungskolben fließen. In dem wieder angestellten Gasstrom wird allmählich zum Sieden erhitzt und der Schwefelwasserstoff in etwa 15 min in die Vorlage übergetrieben. Das Cadmiumsulfid in der Vorlage wird in üblicher Weise in 0,02 n KJO_3-Lösung unter Zusatz von KJ-Lösung und Salzsäure gelöst und das unverbrauchte Jod mit 0,02 n Thiosulfatlösung zurücktitriert. Im Zersetzungskolben kann das *Halogen* nach Volhard titriert werden. Bei der Halogenbestimmung in schwefelfreien Substanzen unterbleibt die Destillation. Man versetzt unmittelbar die schwefelsaure Lösung des Inhaltes des Aufschlußröhrchens mit einem Überschuß an 0,01 n $AgNO_3$-Lösung, filtriert, wäscht und titriert im Filtrat nach Zusatz von 2 ml Nitrobenzol das überschüssige Silbernitrat mit 0,01 n NH_4SCN-Lösung und Eisenalaunlösung als Indicator zurück.

A. Kurtenacker.

Halogene. L. M. Liggett[1] *verwendet bei der Bestimmung von organisch gebundenem Halogen* eine Lösung von *Natriumdiphenyl* in Äthylenglykoldimethyläther zur Abspaltung der Halogene[2]. *Arbeitsvorschrift.* Zur Herstellung der Reagenslösung werden in einem trockenen 2 Liter-Dreihalskolben, der mit einem Rührer versehen ist, 300 ml wasserfreies Toluol und 58 g metallisches Natrium (am besten feingekörntes von der Größe 20–50 μ) unter Einleiten eines schwachen Stickstoffstromes am Rückflußkühler erwärmt, bis das Metall nahezu geschmolzen ist, durchgerührt, und dann auf 10° C abgekühlt. Anschließend fügt man 1250 ml wasserfreien Äthylenglykoldimethyläther zu, rührt unter nochmaligem Einleiten eines schwachen Stickstoffstromes durch und gibt dann noch 390 g Diphenyl (Fp 68° C) zu. Die Reaktionstemperatur sollte unter 30° C gehalten werden. Das Reagens ist, wenn es vor Luft und Feuchtigkeit geschützt wird, bei einer Temperatur von 5° C über 1 Jahr haltbar. Die Probe, die ungefähr 0,02–0,15 g Chlor oder die äquivalenten Halogenmengen enthalten soll, wird in einem Scheidetrichter mit 10–15 ml halogenfreiem Toluol (oder je nach der Natur der Substanz mit Benzol, verschiedenen Äthern, Dioxan oder Heptan) gelöst und nach Zugabe von 20 ml Diphenyllösung, die frei von restlichem Natrium ist, 30 sec lang vorsichtig bis zu dunkler Grünfärbung geschüttelt. Wird das Gemisch farblos oder braun, so muß noch weiter Diphenyllösung zugegeben werden. Nach 5 min wird mit 20 ml dest. Wasser extrahiert (Verschwinden der grünen Farbe) und nach Ablassen der wäßrigen Schicht noch 2 mal mit je 50 ml 3 n Salpetersäure. Eine Emulsionsbildung kann durch Spuren Ölsäure und Pyridin als Stabilisator verhindert werden. Die Halogene werden dann nach Volhard titriert. (Vor der Rücktitration mit 0,1 n Ammoniumrhodanid fügt der Verf. 2 ml Nitrobenzol zu.) Gleichzeitig wird ein Blindversuch angesetzt unter Verwendung von 20 ml Diphenylreagens, das mit Wasser extrahiert und in der gleichen Weise weiter behandelt wird. Verf. untersuchten eine Reihe aliphatischer und aromatischer Halogenverbindungen. Dabei konnten übereinstimmende Werte erhalten werden; die Differenzen betrugen 0,0–1,0%. Als Fehlergrenze wird 2% angegeben. Die Methode eignet sich für sämtliche organischen Chlor- und Bromverbindungen wie Mono- und Polyhalogene, substituierte aliphatische und aromatische Verbindungen. Bei der Bestimmung von Monochlorbenzol und Hexabrombenzol wird als Reagens Lithiumdiphenyl empfohlen.

Doris Heiligmann.

[1] Analyt. Chemistry **26**, 748–750 (1954). Chemicals Corp., Wyandotte, Mich.

[2] Vgl. F. L. Benton und W. H. Hamill, Analyt. Chemistry **20**, 269 (1948). Pecherer, B., C. M. Gambrill und C. W. Wilcox, Analyt. Chemistry **22**, 311 (1950); vgl. diese Z. **133**, 308 (1951).

I. Simonyi, G. Tokár und Gy. Gál[1] überprüften die *Methode zur Bestimmung von organisch gebundenen Halogen* von J. Hald[2] und beobachteten, daß in alkalischer Lösung nur *aluminiumhaltiges* Raney-Nickel fähig ist, das Halogen abzuspalten. Sie geben eine allgemein brauchbare Methode an, welche darin besteht, daß 0,1—0,3 g Substanz in einem 100 ml-Schliffkolben in 10 ml Alkohol mit 2—3 ml 10%iger Natronlauge versetzt und nach Zugabe von 0,5 g, 2—3% Al enthaltendem Raney-Nickel unter Rückfluß 30—60 min gekocht wird. Die Lösung wird abgekühlt, filtriert, mit 10%iger Salpetersäure gegen Lackmus angesäuert und das Halogen nach Volhard bestimmt. Als Lösungsmittel können auch Wasser, Methanol oder ein anderes halogenfreies Lösungsmittel oder deren Gemische verwendet werden. Sollte Natronlauge die Substanz fällen, so wird alkoholische Lauge verwendet. Aus geringen Substanzmengen kann die Bestimmung mit 0,02 oder 0,01 n Maßlösungen durchgeführt werden. Solche organische Substanzen, welche Lauge dunkel färben, können in saurer Lösung reduziert werden. In diesem Fall gibt man zur Lösung 0,5 g nasse, halogenfreie Pd-Kohle mit 5—10% Pd (als Katalysator), 0,5—1 g Zinkgranalien, kocht 50—60 min unter Rückfluß und gibt in 4—5 Anteilen 10 ml 25%ige Schwefelsäure dazu. Die Lösung wird filtriert und das Halogen nach Volhard bestimmt. J. Plank.

R. Wickbold[3] berichtet über *die quantitative Verbrennung fluorhaltiger organischer Substanzen* in der von ihm entwickelten Quarzapparatur zum quantitativen Aufschluß halogenhaltiger organischer Verbindungen[4]. — Im Gegensatz zu der durch Schmelzen mit Natriumperoxyd zerstörbaren Kohlenstoffverknüpfung mit A, Br oder J gelingt die quantitative Spaltung der C-F-Bindung in der Schmelze mit Na_2O_2 nicht mit Sicherheit. — Im Prinzip arbeitet das Verfahren wie folgt. Die Analysenprobe wird durch Erhitzen von außen in einem kräftigen O_2-Strom verbrannt. Hindurchleiten der Verbrennungsgase durch eine mit O_2-Überschuß brennende H_2-Flamme macht die Verbrennung quantitativ. Die hohe Flammentemperatur macht Wasserkühlung des Reaktionsraumes erforderlich. Nach 60 Analysen konnte noch kein merklicher Angriff des Fluorwasserstoffs auf die Quarzapparatur festgestellt werden. Bei den Testanalysen erfolgt die Absorption in 10 ml 1n Natronlauge. Die Aufarbeitung erfolgte nach dem Bleichlorfluoridverfahren, dem allerdings kleine Fehler anhaften. — Die Apparatur kann auch für die Analyse von Substanzen mit geringem Fluorgehalt z. B. von organischen Flüssigkeiten benutzt werden. Ein als „Saugbrenner" bezeichnetes Zusatzgerät gestattet das Einsaugen und Verbrennen beliebig großer Flüssigkeitsmengen. — Die Aufarbeitung der Vorlagelösungen wurde in diesem Falle nach dem photometrischen Verfahren von D. Monnier u. Mitarb.[5] vorgenommen. T. Breyhan.

R. Belcher, E. F. Caldas, S. J. Clark und A. M. G. Macdonald[6] nehmen *die Mikrobestimmung von Fluor in organischen Verbindungen* vor, indem sie die Substanz mit metallischem Natrium oder Kalium zerstören[7], das Fluor-Ion aber abweichend von früher[7] nicht als PbClF abscheiden, sondern mit Thoriumnitrat-

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **60**, 97—98 (1954) [Ungarisch] (mit dtsch. Zus.fass.). Lab. Verein. Heil- u. Nährstoff-Fabr., Budapest.

[2] Acta pharmac. int. (Kopenhagen) **2**, 87 (1951).

[3] Angew. Chem. **66**, 173—174 (1954). Chem. Werke Hüls AG, Marl, Kr. Reckl.

[4] Wickbold, R.: Angew. Chem. **64**, 133 (1952); vgl. diese Z. **142**, 133 (1954).

[5] Helv. chim. Acta, **31**, 929 (1948); vgl. diese Z. **129**, 419 (1949).

[6] Mikrochim. Acta (Wien) **1953**, 283—289. Univ. Birmingham (England).

[7] Belcher, R., und J. C. Tatlow: Analyst (London) **76**, 593 (1951); vgl. diese Z. **137**, 45 (1952/53).

lösung titrieren. In Gegenwart von Schwefel oder Stickstoff wird eine etwas modifizierte Methode angewandt, um den störenden Einfluß der Cyanid- und Sulfid-Ionen zu beseitigen. *Ausführung.* 3—5 mg Probe werden mit 30—40 mg Natrium oder, falls eine Fluorkohlenstoffverbindung vorliegt, mit Kalium, in einer Nickelbombe geschmolzen, wobei man im wesentlichen in der bereits früher[1] beschriebenen Art verfährt[2]. Nach dem Aufschluß bringt man die Lösung auf 100 ml und filtriert. Zur *Titration des Fluor-Ions in Abwesenheit von Stickstoff und Schwefel* bestimmt man zunächst die Menge 0,05 n Salzsäure, die zur Neutralisation von 20 ml der Fluoridlösung notwendig ist. Als Indicator dient ein Gemisch von 4 Tropfen Bromkresolgrün- und 1 Tropfen Methylgelblösung (0,2%ige Lösungen in Äthanol). Weitere 20 ml der Fluoridlösung versetzt man genau mit der so bestimmten Menge 0,05 n Salzsäure und fügt außerdem 2,5 ml 0,05 n Säure im Überschuß zu. In das Vergleichsglas kommen 20 ml Wasser, 2,50 ml 0,05 n Salzsäure und so viel Milliliter 0,05 n NaCl-(KCl)-Lösung als 0,05 n Salzsäure zum Neutralisieren verbraucht worden sind. Beide Lösungen versetzt man mit 1 ml 0,05%iger wäßriger Alizarinrot S-Lösung, titriert die zu prüfende Lösung mit 0,001 m Thoriumnitratlösung [0,76 g $Th(NO_3)_4 \cdot 4\,H_2O$ im Liter] bis zur deutlichen Rosafärbung und verdünnt mit Wasser auf 50 ml. Der Vergleichslösung fügt man genau die gleiche Menge $Th(NO_3)_4$-Lösung zu und titriert unter allmählichen Verdünnen auf das Volumen der Untersuchungslösung mit Standard-NaF- (oder KF)-Lösung (25 μg F /ml), bis die Farben beider Lösungen übereinstimmen. — *In Gegenwart von Stickstoff oder Schwefel* kocht man die mit 2,5 ml 0,05 n Salzsäure im Überschuß versetzten Lösungen 15—30 sec lang, läßt abkühlen, neutralisiert genau mit 0,05 n Natronlauge, setzt 2,50 ml 0,05 n Salzsäure zu und verfährt weiter wie oben angegeben.

R. Belcher, A. M. G. Macdonald und A. J. Nutten[3] beschreiben ein *Verfahren zur Mikrobestimmung von Jod, Brom und Chlor in fluorhaltigen organischen Substanzen*, mit dessen Hilfe alle vier Halogene unabhängig von ihrem gegenseitigen Verhältnis in *einer* Einwaage nebeneinander erfaßt werden können. Die Probe wird dazu mit Natrium in einer Nickelbombe erhitzt. Das entstandene Jodid wird mit Brom zu Jodat oxydiert und jodometrisch bestimmt. In einem zweiten aliquoten Anteil wird Bromid (bzw. die Summe Bromid und Jodid) nach Oxydation mit Hypochlorit zu Bromat (und Jodat) ebenfalls jodometrisch bestimmt. Ein dritter aliquoter Teil dient zur Bestimmung von Chlorid (bzw. der Summe Chlorid, Bromid und Jodid) nach der Quecksilberoxycyanidmethode von F. Vieböck[4] (die die Verfahren von Volhard oder Mohr an Empfindlichkeit übertrifft). In weiteren aliquoten Teilen kann schließlich das Fluorid wie früher angegeben erfaßt werden[5]. Beleganalysen zeigen, daß das beschriebene Verfahren genaue Werte liefert. Liegt neben Fluor nur *ein* weiteres Halogen vor, was meist der Fall ist, so kann die Arbeitsweise natürlich entsprechend vereinfacht werden. — *Ausführung. Chlorbestimmung.* Man schließt die 2,5-5 mg Cl enthaltende Probe wie früher angegeben[1, 2] mit Natrium in der Nickelbombe auf, vermeidet aber die Anwendung von Äthanol zur Zersetzung des Überschusses an Natriummetall. Man gibt vielmehr kleine Stückchen fester Kohlensäure in den Becher der Bombe und fügt in 20 sec-Abständen einzelne Tropfen Wasser bis zum Aufhören der Reaktion zu. Dann füllt man im

[1] Belcher, R., und J. C. Tatlow: Analyst. (London) **76**, 593 (1951); vgl. diese Z. **137**, 45 (1952/53).

[2] Die etwas verbesserte Bombe wird von Charles W. Cook & Sons, Ltd., Perry Bar, Birmingham 22 B (England) geliefert.

[3] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 104—116.

[4] Ber. dtsch. chem. Ges. **65**, 493 (1932); vgl. diese Z. **96**, 308 (1934); **99**, 156 (1934).

[5] vgl. das vorstehende Referat.

Meßkolben auf 100 ml auf und filtriert durch ein trockenes Filter. 20 ml Abnahme säuert man mit 0,2 n Salpetersäure gegen Methylrot-Methylenblaumischindicator schwach an, verkocht CO_2 und neutralisiert nach dem Abkühlen genau mit 0,01 n Natronlauge unter Verwendung von Indicatorvergleichslösung. Nach Zugabe von 10 ml Quecksilberoxycyanidlösung (20 g im Liter) titriert man die frei gewordene Lauge mit 0,01 n Schwefelsäure. Die gleiche Menge 0,01 n Schwefelsäure wird in einer Vergleichsflasche mit 10 ml Hg(CNOH-Lösung versetzt und mit 0,01 n NaCl-Lösung bis zum Farbumschlag des Indicators titriert. Der NaCl-Verbrauch entspricht der zu bestimmenden Cl-Menge. In stickstoffhaltigen Proben zersetzt man das entstandene Cyanid durch Aufkochen mit 1 ml Perhydrol, vertreibt diesen Überschuß unter Zugabe von Platinkatalysator, neutralisiert dann und verfährt wie beschrieben weiter. *Brombestimmung.* 20 ml Abnahme neutralisiert man mit 2 n Salzsäure gegen Methylrot als Indicator, erhitzt mit 5 ml KH_2PO_4-Lösung (24 g/100 ml) und 5 ml 5%ige NaOCl-Lösung 8—10 min zum Sieden, fügt 5 ml Natriumformiatlösung (30 g NaOH + 32 ml 90%ige Ameisensäure in 100 ml) zu, versetzt nach dem Abkühlen mit 5 ml 9 n Schwefelsäure, 1 Tropfen 5%iger Ammoniummolybdatlösung und 0,5 g KJ und titriert mit 0,02 n Thiosulfatlösung. *Jodbestimmung.* Man neutralisiert 20 ml Abnahme mit 2 n Schwefel- oder Salzsäure, läßt nach Zusatz von 1 ml gesätt. Bromwasser 5 min stehen, entfernt den Bromüberschuß durch Zutropfen von 90%iger Ameisensäure säuert mit 5 ml 2 n Schwefelsäure an und titriert nach Zugabe von 0,2—0,3 g KJ mit 0,02 n $Na_2S_2O_3$-Lösung. In N-haltigen Proben wird Cyanid zunächst mit Perhydrol zerstört.

In zwei weiteren Veröffentlichungen berichtet R. Belcher[1] zusammenfassend über seine bisherigen Untersuchungen zur *Analyse fluorhaltiger organischer Verbindungen*[2]. H. Freytag.

Die potentiometrische Chloridbestimmung nach J. Northrop[3] haben J. A. Kuck, M. Daugherty und D. K. Batdorf[4] zur Chloridbestimmung *in organischen Substanzen* nach deren Verbrennung nach Pregl für Einwaagen von 0,1 bis einige Milligramm verwendet. Die Methode wurde an einer Reihe von Testsubstanzen geprüft. Bei Einwaagen unter 0,3 mg gibt sie einen konstanten positiven Fehler; bei größeren Einwaagen sind die Werte sehr genau. Die Fehler betragen bei mg-Einwaagen ± 0,1%, bei Einwaagen von Zehntelmilligrammen ± 0,1—0,5%. Das Verfahren wird ausführlich beschrieben. K. Brodersen.

Zur Mikrobestimmung von Arsen in organischen Verbindungen führt R. Lévy[5] das Element mit konz. Schwefelsäure in AsO_4^{3-}-Ionen über, neutralisiert die Lösung, versetzt sie mit einem Boratpuffer und gibt einen Überschuß von etwa 3 ml einer 0,015 n Silbernitratlösung hinzu. Der Niederschlag von Ag_3AsO_4 wird filtriert und der Überschuß an $AgNO_3$ mit einer 0,015 n Kaliumchloridlösung zurücktitriert. Der Endpunkt wird potentiometrisch mit einer Silberelektrode bestimmt. Von der verbrauchten Menge an Silbernitratlösung wird eine empirische Korrektur für die vom Ag_3AsO_4-Niederschlag adsorbierte $AgNO_3$-Menge (ε_{As}) abgezogen, die sich nach der Gleichung $\varepsilon_{As} = 0{,}223 \log (1 - V) - 0{,}058$ berechnet. (V sind die verbrauchten ml 0,015 n $AgNO_3$-Lösung)[6]. G. Denk.

[1] Österr. Chemiker-Ztg. **55**, 158–160 (1954); Chim. analytique **36**, 65—67 (1954).

[2] Belcher, R., u. Mitarb.: vgl. diese Z. **134**, 368 (1951/52); **137**, 45, 374 (1952/53); **139**, 291 (1953); **144**, 385 (1955).

[3] J. gen. Physiology **31**, 312 (1948).

[4] Mikrochim. Acta (Wien) **1954**, 297–307. Amer. Cyanamid Co., Stamford, Conn.

[5] C. R. Acad. Sci. (Paris) **238**, 2320—2321 (1954).

[6] Die analoge Methode zur Phosphatbestimmung vgl. R. Lévy, C. R. Acad. Sci. (Paris) **236**, 1781 (1953); vgl. diese Z. **142**, 76 (1954).

IV. Spezielle analytische Methoden.

3. Auf Pharmazie bezügliche.

Barbitursäure und Veronal kann man nach P. Zuman u. Mitarb.[1, 2] *polarographisch* in kleiner Konzentration bestimmen, wobei für *Barbitursäure*[1] die Quecksilbertropfelektrode nur in schmalem Bereich anwendbar ist, die strömende Elektrode gute Werte im Bereich von $5 \cdot 10^{-5}$ bis 10^{-3} m liefert. *Veronal*[2] kann man mit der Tropfelektrode zwischen 10^{-5} und 10^{-4} m bestimmen, die strömende Elektrode ist hier zwischen 10^{-5} und 10^{-3} m anwendbar. Die Barbiturate gehen mit dem Quecksilber der Elektrode Verbindungen ein, die an der Oberfläche adsorbiert werden und zur Folge haben, daß die Stufenhöhe bei höheren Konzentrationen von dieser unabhängig wird. Dabei ist festzustellen, daß die Verbindung des Veronals fester ist als die der Barbitursäure[2]. H. Kurtenacker.

Spektrophotometrische Messungen zur Kobaltreaktion der Barbiturate führen W. Paulus und O. Pribilla[3] durch. Jeweils 3 ml der 0,1%igen Lösungen der Barbiturate in Chloroform wurden mit 0,1 ml 1%iger methanolischer Kobaltacetatlösung und 0,6 ml 5%iger methanolischer Isopropylaminlösung versetzt und gegen den Blindansatz (3 ml $CHCl_3$ + 0,1 ml der Kobaltacetatlösung + 0,6 ml der Isopropylaminlösung) gemessen. Die Absorptionskurven von *Veronal* und *Phanodorm* haben Maxima bei 565 mμ, die von *Luminal*, *Evipan* und *Noctal* zeigen Maxima bei 560 mμ, außerdem haben alle noch ein flaches Maximum bei ungefähr 1100 mμ. Eine Abhängigkeit der Höhe der Maxima vom Molekulargewicht ist nicht festzustellen, dagegen ist eine Abhängigkeit von der Stellung der Substituenten im Barbiturring zu bemerken. Es wurden für die genannten Verbindungen unter den angegebenen Arbeitsbedingungen Eichkurven für den Bereich von 0,1–1,0 mg/ml aufgestellt. Bei Verwendung von wasserfreiem Essigsäureäthylester wurden gleichfalls brauchbare Kurven erhalten, die wegen der größeren Farbintensität der Komplexe in diesem Lösungsmittel etwas steiler verlaufen, wobei die vom Luminal mit der vom Veronal praktisch identisch ist. Alle Kurven erfüllen für den angegebenen Bereich das Lambert-Beersche Gesetz, nur die Kurve von Phanodorm zeigt ab 0,7 mg/ml eine Abweichung. H. Pohl.

Die argentometrische Bestimmung von Barbitursäurederivaten nach der Methode von E. Schulek und P. Rózsa[4] bzw. B. Danielsson[5] wurde von P. Chavanne und H. Marie[6] abgeändert. Kaliummetaborat, dessen Existenz als definiertes Salz übrigens bestritten wird, wurde durch Kalilauge und Orthoborsäure ersetzt. – *Ausführung.* Etwa 0,600 g des Barbitursäurepräparates löst man in 7 ml n alkoholischer Kalilauge, fügt 33 ml Wasser zu, macht die Flüssigkeit lauwarm zum Auflösen von 0,45 g Borsäure und kühlt auf Raumtemperatur ab. Hierauf setzt man 1,5 ml 10%ige wäßrige Kaliumchromatlösung zu und titriert mit 0,1 n Silbernitratlösung bis zum ersten bleibenden Farbunterschied gegenüber der citronengelb gefärbten Blindprobe. Diese bereitet man durch Aufschwemmen von 2 g gefälltem

[1] Koryta, J., u. P. Zuman: Chem. Listy **46**, 389–393 (1952); vgl. auch Collect. czechoslow. chem. Commun. **17**, 197 (1953).

[2] Zuman, P., J. Koryta u. R. Kalvoda: Chem. Listy **47**, 345—356 (1953) [Tschechisch]. Zentrales polarograph. Inst. Prag. Vgl. auch Collect. czechoslow. chem. Commun. **18**, 350—365 (1953).

[3] Arzneimittel-Forsch. **3**, 478—481 (1953). Inst. gerichtl. Med., Univ. Bonn.

[4] diese Z. **112**, 408 (1938).

[5] Svensk. farmac. Tidskr. **55**, 125 (1951).

[6] Ann. pharmac. franç. **11**, 91—97 (1953). Service de Santé, Val-de-Grâce, Paris.

Calciumcarbonat in 55 ml Wasser und Zugabe von 1,5 ml 10%iger K_2CrO_4-Lösung. Ausfällung findet im allgemeinen nach Zugabe der ersten Silbernitratanteile statt. — *Allobarbital*, *Barbital* und *Butobarbital*, aber auch *Phenobarbital* lassen sich sehr genau bestimmen. Bei *Hexobarbital* tritt kein Niederschlag auf[1], doch zeigt sich im Äquivalenzpunkt der Umschlag. H. Freytag.

Die volumetrische Methode zur Bestimmung von Barbitursäurederivaten von E. Pedley[2] (Ausfällung der Barbiturate mit überschüssiger Quecksilberperchloratlösung und Rücktitration des Fällungsreagenses mit Ammoniumrhodanidlösung) wurde von H. Bräuniger und G. Borgwardt[3] nachgeprüft und mit dem üblichen alkalimetrischen Verfahren verglichen. Verf. stellten fest, daß die Pedleysche Methode besonders bei Mengen unter 50 mg Barbitursäurederivat zu niedrige Ergebnisse liefert, da in diesem Fall die absolute Menge an Lösungsmittel und Reagenzien von großem Einfluß auf die gefundenen Werte ist. Demgegenüber erwies sich das alkalimetrische Verfahren auch in einem breiteren Konzentrationsbereich als zuverlässig. Außerdem hat es den Vorzug, daß es im Gegensatz zu der mercurimetrischen Methode ohne Abänderung auch für N-substituierte Barbitursäurederivate brauchbar ist. H. Sperlich.

Über die Bestimmung und Identifizierung von Allyl- und Thiobarbituraten berichtet R. L. Herd[4]. Das Prinzip des Verfahrens besteht darin, daß nach der gravimetrischen Bestimmung der Gesamtbarbiturate die Allyl- bzw. Thiobarbiturate bromometrisch bestimmt werden. Der Gehalt an anderen Barbituraten kann dann aus der Differenz berechnet werden. Aus der Titrationsflüssigkeit lassen sich die Bromierungsprodukte mit Äther ausschütteln und nach Entfernung des freien Halogens mit Thiosulfatlösung und Umkristallisieren mit Chloroform schmelzpunktrein isolieren. H. Sperlich.

Salze von Barbitursäurederivaten, von Diphenylhydantoin, Saccharin und Phthalat können in Eisessiglösung mit 0,1 n Perchlorsäure in Eisessig titriert werden, wie T. Kashima[5] berichtet. Der Endpunkt wird entweder potentiometrisch oder visuell mit Kristallviolett, Malachitgrün oder Methylviolett ermittelt. Während der Titration, die langsam zu geschehen hat, ist die Luftfeuchtigkeit fernzuhalten. Der Wassergehalt des Eisessigs soll bei 0,5—1,0% liegen, die Temperatur während der Titration innerhalb 0,5° konstant sein. Verunreinigungen der Analysensubstanz, z. B. Natriumcarbonat, können extreme Überwerte verursachen. H. Sperlich.

Für die gewichtsanalytische Bestimmung der Opiansäure beschreiben A. K. Ruženceva und A. K. Sinkovskaja[6] ein Verfahren, das auf der Überführung der Opiansäure in Opiazon beruht. — *Ausführung.* Man löst 0,3 g Opiansäure und 0,3 g reines NaCl in einem 100 ml-Erlenmeyerkolben durch Kochen in 4 ml Wasser und versetzt die Flüssigkeit mit einer heißen Lösung von 0,3 g Hydrazinsulfat und 0,4 g wasserfreiem Natriumacetat in 2 ml Wasser. Falls die Mischung trüb wird, wird sie solange erwärmt, bis die Trübung verschwindet, und sofort auf einem Wasserbad am

[1] Vgl. Budde, H.: Dtsch. Apotheker-Ztg. **49**, 295 (1934); vgl. diese Z. **107**, 375 (1936).

[2] J. Pharmacy Pharmacol **2**, 39 (1950); vgl. diese Z. **134**, 291 (1951/52).

[3] Pharmaz. Zentralhalle Deutschland. **93**, 266—269, 299—303 (1954).

[4] J. Assoc. off. agric. Chemists **37**, 209—215 (1954). Food and Drug Administr., Dept. of Health, Educ. and Welfare, St. Louis, Mo. (USA).

[5] J. pharmac. Soc. Japan **74**, 101—104 (1954). [Japanisch]. (Nach engl. Zus.-fass.refer.) National Hygienic Lab., Tokyo.

[6] Ž. anal. Chim. **9**, 101—104 (1954) [Russisch]. Inst., Sergo Orgzonikidze, Moskau.

Rückflußkühler 2 Std erhitzt. Dann beginnen die Kristalle von Opiazon auszufallen. In 4—5 Std ist die Kristallisation vollendet. Das Opiazon wird in einem Filtertiegel Nr. 3 abgenutscht, mit kleinen Mengen (4—5mal je 2 ml) Wasser ausgewaschen, bis in dem Filtrat keine SO_4 - und Cl -Ionen mehr nachweisbar sind, bei 105—110° C getrocknet und der Gehalt an Opiansäure nach der Wägung gemäß der Formel: Prozent Opiansäure $a \cdot 1{,}0193 \cdot 100\,b$ ausgerechnet, wobei a g Opiazon, 1,0193 Umrechnungsfaktor von Opiazon auf Opiansäure, b g Einwaage bedeuten. Die Bestimmung von technischer Opiansäure geschieht ohne Zugabe von NaCl. Martha Wildau.

Eine einfache Mikromethode zum Nachweis und zur Identifizierung von Glucosiden wird von C. A. Bliss und E. Ramstad[1] beschrieben. Das Prinzip des Verfahrens besteht darin, daß die Glucoside zunächst *papierchromatographisch* von Begleitstoffen und voneinander getrennt werden. Dann werden die Glucoside auf dem Papier durch Einwirkung von Carbohydrasen gespalten, worauf die freien reduzierenden Zucker mit Anilinhydrogenphthalat nachgewiesen werden. *Ausführung.* Je 1—5 μl der Pflanzenextrakte bzw. von 1—2%igen Lösungen der Glucoside werden auf die Startpunkte eines Papierstreifens (Whatman Nr. 1) gegeben und absteigend mit dem Lösungsmittel (Butanol-Essigsäure-Wasser, 4:1:5) entwickelt. Nach dem Trocknen wird der Streifen auf eine Glasplatte gelegt. Inzwischen besprüht man einen gleichgroßen Papierstreifen mit einer 1%igen Lösung von Emulsin oder Invertin, die mit Phosphat-Citratpuffer[2] auf p_H 4,7 eingestellt ist. Das feuchte, jedoch nicht nasse Papier wird dann mit einer zweiten Glasplatte auf das Chromatogramm gepreßt und 1 Std im Brutschrank bei 37° C aufbewahrt. Schwer spaltbare Glucoside, wie Arbutin, werden 2 Std hydrolysiert. Dann trocknet man das Chromatogramm und weist die reduzierenden Zucker durch Besprühen mit einer Lösung von Anilinhydrogenphthalat[3] und anschließendes Erhitzen auf 110° C durch die charakteristischen braunen Flecke oder empfindlicher durch Fluorescenz im UV-Licht nach. Auf diese Weise können noch 5—25 μg eines Glucosids erkannt werden. H. Sperlich.

Mit der chemischen Wertbestimmung von Digitalisblättern haben sich M. Langejan und J. A. C. van Pinxteren[4] beschäftigt. Als Bestimmungsmethoden dienten Langejans[5] Verfahren zur Bestimmung der Digitoxose mit dem Bial-Reagens und die Farbreaktion der α,β-ungesättigten Lactongruppe mit 3,5-Dinitrobenzoesäure. Die Schwierigkeiten liegen besonders in der vollständigen Extraktion der wirksamen Inhaltsstoffe und einer Reinigung der Extrakte. Folgende Wege erwiesen sich schließlich als empfehlenswert: *Extraktionsverfahren 1.* Man stellt sich eine Infusion her, indem man 1,5 g gepulverte Blätter mit 1,5 ml Wasser anfeuchtet und nach 15 min 148,5 ml Wasser zugibt, 15 min bei 90° C erhitzt, nach Abkühlen 15 ml 15%ige Bleiacetatlösung zufügt und die überstehende Flüssigkeit durch ein Filter abgießt. 110 g des Filtrats (entspr. 1 g Blätter) werden mit 4mal 50 ml Chloroform-Alkoholmischung (1:1) extrahiert. Man filtriert die gesammelten Extrakte über wasserfreiem Natriumsulfat, wäscht mit 15 ml Chloroform nach, verdampft, löst den Rückstand in 12,5 ml 96%igem Alkohol und füllt zu 50 ml mit Wasser auf. Diese Lösung wird durch eine Säule aus Al_2O_3 (nach Brockmann)

[1] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **42**, 348—350 (1953).

[2] McIlvaine, T. C.: J. biol. Chemistry **49**, 183 (1921); vgl. diese Z. **76**, 377 (1929).

[3] Partridge, S. M.: Nature (London) **158**, 270 (1946); **164**, 443 (1949); vgl. diese Z. **135**, 209 (1952).

[4] Pharmac. Weekbl. **88**, 529—547 (1953) [Holländisch]. Rijks-Univ., Utrecht.

[5] Diss. Utrecht 1950. Ref. Pharmac. Weekbl. **86**, 593 (1951).

von 6—7 cm Höhe filtriert. — *Extraktionsverfahren 2.* Man bereitet sich einen alkoholischen Extrakt aus 2 g Blattpulver mit 20 ml 48%igem Alkohol durch 3stündiges Schütteln. Nach Zugabe von 5 ml 15%iger Bleiacetatlösung filtriert man durch einen Frittenfiltertiegel und wäscht mit Wasser, bis das Filtrat 40 ml beträgt. Dann fügt man 4 ml n Ammoniumphosphatlösung zu, zentrifugiert, wäscht den Niederschlag mit Wasser, gibt 40 ml Alkohol zu und extrahiert die Flüssigkeit mit 3mal 50 ml Chloroform. Die weitere Behandlung erfolgt wie oben, nur wird der Rückstand mit 25 ml Alkohol aufgenommen und zu 100 ml aufgefüllt. 50 ml der wie oben durch die Aluminiumoxydsäule filtrierten Lösung entsprechen 1 g der Droge. — Beim *kalten Macerisieren* werden 1,5 g der Droge mit 5 ml Wasser gequellt und nach 15 min mit 145 ml Wasser in einer Flasche 1 Std geschüttelt. Man fügt alsdann 15 ml 15%ige Bleiacetatlösung zu, filtriert, extrahiert 110 g des Filtrats wie oben mit 4mal 50 ml Chloroform-Alkoholmischung (1 : 1) und behandelt in der gleichen Weise weiter. — *Zur Bestimmung des Digitoxins* über die Digitoxose wird 1 ml der wie oben beschrieben hergestellten Lösung (mit nicht mehr als 100 μg Digitoxose) mit 2 ml des Bial-Reagenses 1 min in einem siedenden Wasserbad erhitzt und dann sofort abgekühlt. Nach Zugabe von 10 ml 96%igem Alkohol überführt man die Lösung in einen 20 ml-Meßkolben, wäscht mit 5 ml 25%iger Salzsäure, füllt mit Wasser auf, mißt die Extinktion der bläulichgrünen Lösung bei 620 mμ gegen 24%igen Alkohol und berechnet den Gehalt an Digitoxin aus einer mit reinem Digitoxin aufgestellten Eichkurve. — Bei der *anderen Bestimmungsweise* werden 5 ml der Lösung in einem 25 ml-Meßkolben mit 5 ml einer 2%igen alkoholischen Lösung von 3,5-Dinitrobenzoesäure und 9 ml 96%igem Alkohol versetzt und auf 15° C abgekühlt. Nach Zugabe von 2 ml n Natronlauge füllt man auf, läßt 10 min bei 20° C stehen und mißt dann die Extinktion bei 550 mμ gegen 24%igen Alkohol. L. Acker.

Die photometrische Bestimmung der Digitalisglucoside in Lanatablättern nach der Geninmethode[1] ergibt nach Untersuchungen von E. Wegner[2] bei manchen Drogenmustern niedrigere Werte als das Digitoxoseverfahren. Verf. konnte durch Modellversuche mit den reinen Agluconen zeigen, daß die Ursache dieser Abweichungen in Verlusten an Digoxigenin liegt, die beim Waschen der Geninlösungen mit Wasser entstehen. Dafür spricht auch die Tatsache, daß die C-glucosidfreien Purpureablätter nach beiden Untersuchungsverfahren gleiche Werte liefern; ferner Beobachtungen an Lanatainfusen vor und nach der Einwirkung von Digilanidase sowie papierchromatographische Untersuchungen, die das Vorkommen von C-Glucosiden in denjenigen Drogenmustern erwiesen, die sich abweichend verhielten. Die papierchromatographische Trennung der Glucoside erfolgte nach der Arbeitsweise von A. B. Svendsen und K. B. Jensen[3] mit dem Unterschied, daß als mobile Phase Wasser verwendet wurde. Die Genine wanderten damit in der Reihenfolge: Digitoxigenin, Gitoxigenin, Digoxigenin (von der Startlinie aus gesehen). H. Sperlich.

Die photometrische Wertbestimmung von Digitalisinfusen mit Hilfe der Baljet-Reaktion wird nach J. Richter[4] folgendermaßen durchgeführt: 20 ml eines filtrierten Digitalisinfuses werden mit 1 ml 10%iger Bleiacetatlösung gemischt, nach 1 min zentrifugiert, die abgegossene Lösung wird mit 1 ml 10%iger Natriumphosphatlösung versetzt und wieder nach 1 min zentrifugiert. 5 ml der klaren

[1] Wegner, E.: Arzneimittel-Forsch. **2**, 382 (1952); vgl. diese Z. **141**, 393 (1954).
[2] Arzneimittel-Forsch. **4**, 456—458 (1954). Tabak-Forsch.-Inst. Forchheim bei Karlsruhe.
[3] Pharmac. Acta Helvetiae **25**, 241 (1950); vgl. diese Z. **142**, 124 (1954).
[4] Pharmazie **9**, 390—394 (1954). Inst. Arzneimittel-Prfg., Berlin.

Lösung kommen in ein Reagensglas. 10 ml des Restes werden mit 20 ml, dann mit 10 ml Chloroform intensiv ausgeschüttelt. 5 ml der durch Zentrifugieren geklärten wäßrigen Phase gibt man in ein zweites Reagensglas. Beide Proben werden möglichst gleichzeitig mit je 1 ml 2,5%iger Natronlauge, dann mit je 5 ml 1%iger äthanolischer Pikrinsäurelösung versetzt, gemischt und nach 5 min in der 2 cm-Küvette mit Filter S 50 im PULFRICH-Photometer gemessen. Die Differenz der Extinktionen ist ein Maß für den Wert des Infuses. Durch Vergleich mit einer Eichkurve, die nach analogem Verfahren mittels 2,5 bzw. 5 mg%iger äthanolischer Digitoxinlösungen festgelegt wurde, und nach einem Zuschlag von 10% ergibt sich der Wirkungswert des Infuses in Digitoxineinheiten. K. SÖLLNER.

Zur Messung der Agluconmenge im Digitalisglucosid fanden G. VASTAGH und J. TUZSON[1] die Pikrinsäuremethode am geeignetsten und stellten im Gegensatz zu dem Befund von BELL und KRANTZ[2] fest, daß bei Anwendung des Filters S 50 im PULFRICH-Photometer die Extinktion als Funktion der Konzentration linear verläuft. Beim sorgfältigen Einhalten der Versuchsbedingungen sind die Extinktionswerte genau reproduzierbar und die Anwendung eines Standards ist überflüssig. In dieser Weise wurde der Aglucongehalt von trockenem Pulver der Digitalisblätter, glycerinhaltiger Solutionen und Injektionen bestimmt. Die Extinktion von *Lanatosid C* ist bedeutend kleiner als die von *A* und *B*, dementsprechend ist die Wertbestimmung eines Gemisches nur dann richtig, wenn das Mengenverhältnis der einzelnen Komponenten bekannt ist. Da ein Teil der Präparate Mischungen der genuinen Glucoside sind, wurde versucht, die Zuckerkomponente zu bestimmen. Die KELLER-KILIANI-Reaktion ist zu diesem Zweck brauchbar. Eisessig, Eisen(III)-chlorid und nitratfreie Schwefelsäure werden nacheinander zugegeben und nicht vorher gemischt. Im Dunkeln erreicht die Farbtiefe in 45 min das Maximum. Da verschiedene Eisessigsorten die Farbtiefe beeinträchtigen, muß bei einer Versuchsreihe derselbe Eisessig verwendet werden. Colorimetriert wird bei Raumtemperatur im PULFRICH-Photometer mit dem Filter S 59. Die mit den isolierten Glucosiden aufgenommenen Eichlinien sind Gerade und zwar fallen die der Lanatoside A, B und C aufeinander, die Digitoxinlinie ist steiler. Die Methode ist zur Gehaltsbestimmung trockener Drogen und galenischer Präparate auch brauchbar, wenn diese infolge Zersetzung Digitoxose enthalten, da dieses mit Chloroform nicht ausgeschüttelt wird. Zur Untersuchung glycerinhaltiger Präparate ist die Pikrinsäuremethode besser; die vollständige Entfernung des Glycerins ist bisher nicht geglückt. Tablettierte Präparate können befriedigend bewertet werden. Zur Bestimmung der Lanatoside A, B und C nebeneinander wurde auch die Trennung nach STOLL und KREIS vorgenommen und die Menge der Komponenten colorimetrisch bestimmt. Die Versuche sind noch nicht abgeschlossen. J. PLANK.

Glucoside und Aglucone in Digitalis purpurea trennt K. BRISEID JENSEN[3] durch *eindimensionale Papierchromatographie* unter Verwendung der Lösungsmittelgemische Chloroform-Methanol-Wasser und Chloroform-Benzol-Formamid. Als Sprühreagenzien werden Trichloressigsäure, Trichloressigsäure-Chloramin, Trichloressigsäure-Antimontrichlorid, ferner m-Dinitrobenzol (alkalisch), LEGALS Reagens und alkalische Pikrinsäure (BALJETS Reagens) verwendet. Diese Reagenzien erzeugen bei nachfolgendem Erhitzen charakteristische Farb- oder Fluorescenz-

[1] Magyar Kémiai Folyóirat **59**, 212–218 (1953) [Ungarisch]. Hygien. Inst., Budapest.

[2] J. Amer. pharmac. Assoc. **35**, 260 (1946); **37**, 297 (1948); **38**, 107 (1949); **39**, 319 (1950).

[3] Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **9**, 99–108 (1953). Univ. Oslo.

flecke auf dem Papier. Als UV-Lichtquelle diente eine Phillips-Lampe HPW 125 W (365 mμ). - Die sauren Reagenzien geben Farb- und Fluorescenzerscheinungen und machen eine Unterscheidung zwischen der Reihe A (Pupureaglucosid A, Digitoxin, Digitoxigenin) und Reihe B (Purpureaglucosid B, Gitoxin, Gitoxigenin) und zwischen Glucosiden und Agluconen möglich. Die nachweisbaren Mengen liegen bei den verschiedenen Substanzen für die Farbreaktionen zwischen 3 und 10 μg, für die Fluorescenzreaktionen zwischen 0,25 und 0,5 μg[1]. J. Eisenbrand.

Für die colorimetrische Bestimmung von Gitoxigenin (I) in Gegenwart von Digitoxigenin empfiehlt D. H. E. Tattje[2] ein abgeändertes Kiliani-Reagens von folgender Zusammensetzung: 0,05% Eisen(III)-chloridhydrat, 37,5% konz. Schwefelsäure, 62,5% sirupöse Phosphorsäure (85%ig). Dieses optimal zusammengesetzte Reagens liefert mit I eine Rotfärbung, die 2 Std beständig ist und die 80mal stärker ist als diejenige, die durch die gleiche Menge Digitoxigenin hervorgerufen wird. — *Arbeitsweise.* 10 ml Reagens werden mit I oder einer Mischung von I und Digitoxigenin versetzt. Nach vollständiger Lösung erwärmt man 9 min in einem Wasserbad von 65° C. Man kühlt 1 min und hält die Mischung weitere 5 min bei Zimmertemperatur. Dann mißt man die Extinktion der Farblösung bei 5800 Å (Bandbreite 50 Å) in einer 0,5 cm-Küvette. Als Leerwert dient das Reagens. Das Beersche Gesetz gilt für Konzentrationen bis zu 1,6 mg in 100 g. H. Sperlich.

Zur colorimetrischen Bestimmung der herzwirksamen Digitalisglucoside empfiehlt D. H. E. Tattje[3] nach eingehenden Untersuchungen folgende Reagenszusammensetzung und Arbeitsweise: 1 ml 5%ige wäßrige $FeCl_3$-Lösung, 1,5 ml Wasser und 5 ml konz. Schwefelsäure werden gemischt und mit Eisessig bis zum Volumen von 100 ml aufgefüllt. In dieser Mischung wird die zu analysierende Substanz gelöst, wobei die Entwicklung eines blauen Farbstoffes nach 10 min ihren Höhepunkt erreicht und weitere 60 min konstant bleibt. Die Messung der Extinktion erfolgt bei 6000 Å. Sie wird mit der Farbe von Standardlösungen verglichen, die unter Benützung reinen Digitoxins nach gleichem Verfahren hergestellt wurden. Bis zu Konzentrationen von je 1 mg Digitoxin oder Gitoxin verläuft die Extinktion proportional der Glucosidkonzentration. K. Söllner.

Zur Gehaltsbestimmung von Digitoxin-Tabletten geben D. Banes und J. Carol[4] ein *verteilungschromatographisches Verfahren* an, bei dem als stationäre Phase Formamid-Wasser (2:1) auf Celite, als bewegliche Phase Benzol-Chloroform (9:1) verwendet werden. Die Methode ermöglicht die quantitative Trennung von *Digitoxin* und *Gitoxin* und den Nachweis von *Digitoxigenin*. Die Bestimmung der Glucoside erfolgt *colorimetrisch* mit Hilfe der Keller-Kiliani- und der Raymond-Reaktion. Die Einzelheiten des Verfahrens mögen im Original nachgelesen werden. H. Sperlich.

Zur Bestimmung reiner herzwirksamer Glucoside empfiehlt E. Voute[5] die von R. Dreywood[6] mitgeteilte Reaktion zum Nachweis von Kohlenhydraten

[1] Frühere Arbeiten vgl. A. B. Svendsen und K. B. Jensen, Pharmac. Acta Helvetiae **25**, 241 (1950); K. B. Jensen, Acta pharmacol. toxicol. (Kopenhagen) **8**, 110 (1952); **9**, 66 (1953); vgl. diese Z. **139**, 71 (1953); **141**, 394 (1954); **142**, 124 (1954).

[2] J. Pharmacy Pharmacol. **6**, 476—480 (1954). Univ. Groningen (Holland).

[3] Ann. pharmac. franç. **12**, 267—275 (1954). Univ. Groningen (Holland).

[4] J. Amer. pharmac. Assoc., sci. Edit. **42**, 674—678 (1953). Food, Drug Admin. Washington 25, DC. (USA).

[5] Pharmac. Weekbl. **88**, 144—155 (1953) [Holländisch]. Rijks- Univ., Utrecht.

[6] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **18**, 499 (1946); vgl. diese Z. **133**, 461 (1951).

mittels Anthron in konzentrierter Schwefelsäure, die zu einer grünen bis blaugrünen Färbung führt. Die maximale Absorption des grünen Reaktionsproduktes befindet sich bei 620 mμ. Die Intensität der Färbung wird von der Temperatur stark beeinflußt. Im Bereich von 10 - 200 μg Glucose ist das BEER-LAMBERTsche Gesetz gewahrt. *Ausführung.* Das Reagens bereitet man durch Auflösen von 200 mg Anthron in 100 ml konz. Schwefelsäure. Vor Gebrauch stellt man es 2 Std in den Eisschrank und bewahrt es dort auch auf. Nach 24 Std ist es nicht mehr brauchbar. Man pipettiert die 6 - 30 μg Glucose ml enthaltenden Lösungen in trockene Reagensgläser mit eingeschliffenem Stopfen und ergänzt auf 5 ml mit destilliertem Wasser. Die Gläser stellt man in kaltes Wasser, fügt mittels einer Pipette mit langsamem Auslauf 10 ml Anthronreagens zu, verschließt mit dem Stopfen, schüttelt rasch um und stellt alle zugleich für 10 min in ein kochendes Wasserbad, danach für 5 min in kaltes Wasser, trocknet sie ab, schüttelt wieder um und ermittelt in 2,00 cm-Küvetten die Extinktion der grünen Lösungen bei 610 mμ gegen Wasser. Als Standard soll Glucoselösung verwendet werden. Die Ergebnisse vorläufiger Glucosebestimmungen in Strophanthus- und Digitalisglucosiden werden mitgeteilt und besprochen. H. FREYTAG.

Die Papierchromatographie stark polarer, herzwirksamer Glucoside und Aglucone führen E. SCHENKER, A. HUNGER und T. REICHSTEIN[1] auf Whatmanpapier Nr. 1 nach folgendem Verfahren durch. Etwa 0,06 mg kristallisierte Substanz (bei Extrakten entsprechend mehr) werden in 0,005 ml Äthanol gelöst und auf der Startlinie aufgetragen, nachdem der Papierstreifen durch n-butanol- bzw. n-butanoltoluolgesättigtes Wasser gezogen und wieder abgepreßt worden war. Nach mehrstündigem Einhängen in eine Kammer, in der sich in zwei Schalen die beiden Phasen einer n-Butanol-Wasser- bzw. n-Butanol-Toluol-Wasseranschüttelung befinden, wird mit der oberen Phase als Lösungsmittel absteigend chromatographiert. Zur Kontrolle der Frontlinie werden einige Punkte 1-Amino-2-methylanthrachinon mitentwickelt. Nachdem die Laufstrecke etwa 30 cm beträgt, wird der herausgenommene Streifen 15 min lang getrocknet. Die Flecken werden durch Aufsprühen einer Lösung von 1 g 3,5-Dinitrobenzoesäure in 50 ml Methanol + 50 ml 2 n Kalilauge entwickelt. (Literaturangaben über andere Sprühreagenzien im Original.) Die Flecken müssen markiert werden, da sie beim Liegen verblassen. Die Verf. chromatographierten nach dem beschriebenen Verfahren *Ouabain, Convallatoxin, Thevetin, k-Strophanthosid, k-Strophanthin-β, Odorobiosid G-monoacetat, Thevebiosid, Sargenosid-diacetat, Nigrescigenin, Acolongiflorosid K, Uzarin, Digitalinum verum-monoacetat, Gofrusid, Frugosid, Odorotriosid G-monoacetat und Sarmentosid A* (Skizzen der Chromatogramme im Original). K. SÖLLNER.

Der Kohlenhydratanteil von Senfölglucosiden kann mit dem Anthronreagens, wie O.-E. SCHULTZ und R. GMELIN[2] zeigen, auch bei kleinen Substanzmengen mit genügender Genauigkeit bestimmt werden. Der Agluconanteil stört dabei nicht mit Ausnahme beim Sinalbin, weil dieses phenolische Gruppen enthält. — *Arbeitsweise.* 5 ml einer Glucosidlösung mit 1 - 13 mg% Glucosiden werden mit 10 ml Anthronreagens (0,2 g in 100 ml reinster 95%iger Schwefelsäure) unterschichtet (ein Leerwert mit Wasser in gleicher Weise) und dann durch Durchleiten von Luft vorsichtig gemischt. Anschließend wird 10 min im Wasserbad gekocht, mit kaltem Wasser abgekühlt und colorimetriert. Für jedes Glucosid muß eine eigene Eichkurve angelegt werden, bzw. es kann ein Faktor errechnet werden, der sich auf die Eichkurve mit Glucosehydrat bezieht. Zur Anwendung dieser Methode auf *Pflanzen*

[1] Helv. chim. Acta **37**, 680—685 (1954). Univ. Basel.
[2] Z. Naturforsch. **9** B, 27—29 (1954). Univ. Tübingen.

und ihre Auszüge ist eine Abtrennung der störenden Bestandteile notwendig, die entweder papierchromatographisch oder durch anionotropes Aluminiumoxyd erfolgt. Zur papierchromatographischen Abtrennung wird die Methode von R. I. Dimler, W. C. Schäfer, C. S. Wise und C. E. Rist[1] etwas modifiziert. Beispiel: 1 g fein gemahlener *Iberis amara-Samen* wird im Soxhletapparat mit 50 ml Methanol erschöpfend extrahiert, der Extrakt eingeengt und auf 10 ml mit Methanol aufgefüllt. Von dieser Lösung werden 0,1 ml auf Filterpapier 2043b mit Butanol-Eisessig Wasser (4:1:5) aufsteigend 10 Std chromatographiert. Die Kontrollstreifen werden mit ammoniakalischer Silbernitratlösung gefärbt, danach auf dem eigentlichen Chromatogramm das Glucosid herausgeschnitten und die Streifen nach Dent, Stepka und Stuart[2] zwischen 2 Objektträger gelegt und extrahiert. Auch mit einer sauren Aluminiumoxydsäule Fa. Woelm-Eschwege läßt sich eine Reinigung durchführen, wobei vorhandene Zucker die Säule passieren und das Glucosid quantitativ ausgetauscht wird. Mit 0,1 n Kalilauge läßt sich letzteres leicht eluieren. In Iberis amara wurden 1,57% Glucosid gefunden. K. Hinsberg.

4. Auf Physiologie und Pathologie bezügliche Methoden.

Literatur. R. Weidenhagen: *Ergebnisse der Enzymforschung.* Band 13. Bearbeitet von Heinz Gibian, Peter Karlson, Wolfgang Langenbeck, Hermann Mix. VIII, 314 Seiten mit 25 Abbildungen. Akademische Verlagsgesellschaft Geest & Portig K.-G., Leipzig 1954. Preis geb. DM 25,50.

In dem vorliegenden 13. Band berichtet H. Gibian über das Hyaluronsäure-Hyaluronidasesystem. In dieser Arbeit wird neben einer möglichst vollständigen Übersicht über die zu dem Thema veröffentlichten Untersuchungen eine Darstellung der augenblicklichen Auffassungen gegeben. Der Bericht wird durch einen Nachtrag über die neueste Literatur ergänzt. Ferner erhält der Band einen Beitrag von P. Karlson über die biochemischen Wirkungen der Gene. Hier wird die wichtige Frage besprochen, wie ein Gen an einer bestimmten Stelle des Organismus ein bestimmtes Merkmal auslösen kann. Da eine Fernwirkung nicht anzunehmen ist, müssen Zwischenglieder vorhanden sein, deren experimentelle Erfassung versucht werden muß. Der Beitrag bespricht dieses Gebiet der biochemischen Genetik. Schließlich berichten H. Mix und W. Langenbeck anschließend an einen früheren Bericht [Ergebnisse der Enzymforschung, Band 2, 314 (1933)] über die neuere Entwicklung der organischen Katalysatoren. Dabei werden vor allem die Forschungen berücksichtigt, die Langenbeck zu diesem Problem durchführte. Alle Abschnitte des Werkes enthalten sorgfältige Literaturangaben, so daß jedem Interessenten für die genannten Gebiete das Buch ein wertvoller Berater sein wird. A. Gehring.

Steroide. *Zur Bestimmung der Reinheit von Steroiden* verwenden W. Tarpley und M. Yudis[3] die Löslichkeitsanalyse, die früher von J. H. Northrop und M. Kunitz[4] und von R. M. Herriot[5] und T. S. Webb[6] diskutiert worden ist. Sie beruht auf dem Prinzip, daß von einer reinen Substanz unabhängig von der Menge

[1] Analyt. Chemistry **24**, 1411 (1952); vgl. diese Z. **140**, 203 (1953).
[2] Nature (London) **160**, 682 (1947).
[3] Analyt. Chemistry **25**, 121–127 (1953). Schering Corp., Bloomfield, N.J. (USA).
[4] J. gen. Physiol. **13**, 781 (1930).
[5] Chem. Reviews **3V**, 413 (1942).
[6] Analyt. Chemistry **20**, 100 (1948).

des Bodenkörpers in der Volumeneinheit stets dieselbe Menge gelöst ist. Enthält die Substanz aber Verunreinigungen, so nimmt die Menge der gelösten Substanz zu, bis auch die Lösung an diesen gesättigt ist. Im Falle der Steroide gibt die Löslichkeitsanalyse theoretisch nur in 2 Fällen kein quantitatives Ergebnis für die Menge der Verunreinigungen, nämlich: wenn die Mischung aus einer festen Lösung besteht und wenn die Mischung aus 2 oder mehr Komponenten besteht, die im selben Verhältnis wie ihre Löslichkeiten stehen. Zur Bestimmung der Löslichkeit vermischt man genau abgewogene Mengen der Substanz mit genau abgemessenen Volumina der Flüssigkeit, schmelzt in Glasampullen ein, hält mindestens 2 Wochen bei 25° C, um das physikalische Gleichgewicht einzustellen, öffnet dann die Ampullen, filtriert den Inhalt und bestimmt den Trockenrückstand von aliquoten Teilen. Die besten Ergebnisse erhält man, wenn die Löslichkeit des Stoffes zwischen 0,1 und 1% liegt und das Lösungsmittel einen Siedepunkt von 65—100° C hat. Man macht den Versuch mit verschiedenen Einwaagen und trägt die Befunde über die gelöste Substanz in ein Koordinatensystem ein, bei welcher auf der Ordinate die Menge des gelösten Stoffes auf der Abszisse das Gewicht der Probe (jeweils in mg ml Lösungsmittel) aufgetragen wird, wobei man bei reinen Lösungen eine horizontale, bei verunreinigten Stoffen eine geneigte Gerade erhält, deren Neigung von dem Grade der Verunreinigung abhängig ist. Je nach der Natur der Verunreinigungen kann die „Löslichkeitskurve" auch einen Knick zeigen. Für Cortisonacetat wird Benzol, Äthylalkohol oder Methylalkohol als Lösungsmittel empfohlen, für Methylandrostendiol Chloroform, Aceton, Toluol oder Äthylacetat, für Pregnenolonacetat Aceton oder Äthylacetat, für Pregnenolon Aceton oder Benzol. Auch andere Beispiele für seltene Steroidderivate werden gebracht. Die Kurven zeigen eindrucksvoll, wie mit zunehmender Reinigung durch Umkristallisation die Löslichkeitskurven ständig flacher werden und damit den Grad der Reinigung anzeigen.

Über die große Löslichkeit mehrerer Steroide in Gegenwart von Natrium-Laurylsulfat berichten P. Ekwall, L. Sjöblom und J. Olsen[1], nachdem sie schon in einer früheren Arbeit[2] die Löslichkeit von 1^1-3-Ketosteroiden in wäßriger Lösung in Gegenwart von Kolloiden festgestellt hatten. Am besten löslich ist Desoxycorti-

Tabelle.

Hormone	Mole Hormone je Mole micellares Natrium-Laurylsulfat	Mole micellares Natrium Laurylsulfat je Mole gelöster Hormone
Desoxycorticosteron	0,47	2,1
Testosteron	0,21	4,7
Testosteropropionat	0,21	4,7
Progesteron	0,18	5,5
Cortison-21-hemisuccinat	0,12	8,5
Desoxycorticosteronacetat	0,18	12,5
Oestradiol	0,015	65,8

costeron, am wenigsten Oestradiol. Letzteres löst sich aber immerhin noch zu 2 mg/ml in Gegenwart von 0,5 m Laurylsulfat. Diese kolloiden Lösungen eignen sich direkt zur UV-Analyse. Im Vergleich zu der Absorption in Äthanol ist die

[1] Acta chem. scand. (Kopenhagen) **7**, 347—351 (1953). Akad. Åbo, Finnland.

[2] Ekwall, P., T. Lundsten und L. Sjöblom: Acta chem. scand. (Kopenhagen) **5**, 1383 (1951); vgl. diese Z. **137**, 208 (1952/53).

Absorption in wäßriger Natriumlaurylsulfatlösung bzw. in Wasser insbesondere nach dem langwelligen Licht zu verschoben. Das Maximum der Löslichkeit wird erreicht, wenn das Verhältnis Hormone zu Laurylsulfat einen bestimmten Wert hat, wie aus der Tabelle ersichtlich ist. K. Hinsberg.

Die Reaktion der Ketosteroide mit Dinitrobenzol in alkalischer Äthanollösung wird von I. E. Broadbent und W. Klyne[1] vor allem zur 17-Ketosteroidbestimmung herangezogen. Eine Reihe anderer Ketosteroide und einige Ketone aus der Triterpenreihe werden auf ihre Reaktion mit Dinitrobenzol untersucht. Die Lage der Absorptionsmaxima und deren zeitliche Veränderungen werden für eine Reihe von Verbindungen angegeben. Eine hohe Extinktion scheint für 17-Ketosteroide spezifisch zu sein. Helga Schmidt (Mannheim).

Zur Trennung von Ketosteroiden durch Verteilungschromatographie verwenden J. K. N. Jones und S. R. Stitch[2] *eine Säule aus Kieselsäure* und als stationäre Phase Nitromethan. Die selektive Elution erfolgt mit einer Mischung von Petroläther-Chloroform, die mit Nitromethan gesättigt ist. Alle Reagenzien müssen vor Gebrauch besonders gereinigt werden. Die feuchte käufliche Kieselsäure wird bei Temperaturen unter 50° C getrocknet, im Mörser zerrieben, durch ein Sieb von 100 mesh getrieben und 6 Std mit Äther extrahiert. Auf diese Weise werden die Leerwerte wesentlich verkleinert. Zur Chromatographie werden 10 g dieses Pulvers angefeuchtet, mit 5 ml Nitromethan in einer Glassäule von 20 mal 300 mm auf einen Baumwollpfropf gespült und entweder durch Druck oder durch Sedimentierung zusammengepreßt. Die einwandfreie Beschaffenheit der Säule kann durch Sudanrot III geprüft werden. Es muß sich ein scharfer horizontaler Streifen ergeben. Die Beschickung der Säule erfolgt am besten mit einer Pipette mit fein ausgezogener Spitze; die Packung der Säule soll so dicht sein, daß 1—1,5 ml/min durchlaufen. In den Eluaten werden die Ketosteroide mit der Zimmermann-Reaktion bestimmt, wobei zu beachten ist, daß die verschiedenen Ketosteroide verschieden stark reagieren. Die Harne werden mit Säure hydrolysiert und entweder mit CCl_4 oder Benzol extrahiert. Die rohen konzentrierten Extrakte werden 2mal mit je 50 ml Wasser, 3mal mit je 50 ml 2 n Natronlauge, wieder 3mal mit je 50 ml Wasser gewaschen und über Nacht über wasserfreiem Na_2SO_4 getrocknet. Nach Filtration füllt man auf 50 ml auf. Ein Teil des Extraktes wird benutzt, um die gesamten Ketosteroide zu bestimmen, ein anderer Teil mit ungefähr 3,5 mg Steroiden wird chromatographisch aufgearbeitet und ein dritter Teil wird mit Hilfe von Girard-Reagens T von der Nichtketofraktion abgetrennt. Die bis zu 440 ml betragenden Fraktionen werden mechanisch aufgefangen. Es wird gezeigt, daß Dehydroepiandrosteron und Epiandrosteron nebeneinander erscheinen, Androsteron und Testan-3 α-ol-17-on in der Fraktion 100—120 bzw. 210—260 ml. Cholest-4-en-3on, Androsteron, Androst-5-en-3β-ol-17-on und Androst-4-en-3,17-dion können ebenfalls nebeneinander bestimmt werden. Die aus einem Harnextrakt gewonnenen Eluate können auf Grund der Testversuche den einzelnen Fraktionen zugeordnet werden. Hierfür werden 2 Beispiele gegeben. Die chromatographische Analyse gestattet die Trennung chemisch nah verwandter Steroide. Es wird gezeigt, daß bei der sauren Hydrolyse wahrscheinlich Kunstprodukte entstehen, wie das schon von anderen Autoren vermutet worden ist.

[1] Biochemic. J. (Proc.) **56**, XXX—XXXI (1954). Postgraduate Med. School, London.

[2] Biochemic. J. **53**, 679—684 (1953). Univ. Bristol und Bristol Mintal Hospitals, Barrow Garney (England).

Die Bestimmung der 17-Ketosteroide nach der (an sich guten) Methode von C. Hamburger und G. Rasch[1] sucht E. Birket-Smith[2] zu vereinfachen und zu vervollkommnen. Unter Abwandlung wesentlicher Punkte der Originalmethode wird folgendes Verfahren vorgeschlagen: 10 ml Harn + 1 ml 40%ige Schwefelsäure werden 25 min gekocht und abgekühlt. Es scheint praktischer, eine konstante Harnmenge zu nehmen, als jeweils $^1/_{50}$ der Tagesmenge. Der abgekühlte Harnextrakt wird 1 min mit 25 ml Äther heftig geschüttelt. Werden hierbei 2 ml 10 n Natronlauge zugesetzt, so treten weniger Emulsionen auf. Der Ätherextrakt wird über 10 g gepulvertem NaOH filtriert, das NaOH-Pulver mit 2 ml Äther nachgewaschen. Man erreicht hierdurch dieselbe Reinigung wie durch Schütteln mit Alkalilösung. Die Resultate sind fast dieselben. Das gepulverte NaOH wird unter Äther aufbewahrt. Die Reinigung wird durch Bestimmung des Quotienten E 470/E 520 kontrolliert. Der Quotient ist für verschiedene Harne allerdings sehr verschieden. Die colorimetrische Bestimmung erfolgt nach Zimmermann, modifiziert nach N. H. Callow, R. K. Callow und C. W. Emmens[3]. Der Äther wird im schwachen Vakuum durch UR-Bestrahlung verdampft, der Rückstand in 0,2 ml absolutem Alkohol gelöst, dann 0,2 ml Dinitrobenzollösung (2%ig in Alkohol) etwaig unter leichtem Erwärmen, dann 0,2 ml 2,5 n alkoholischer Kalilauge hinzugefügt. Es wird 30 min auf 37° C erwärmt, mit 9,4 ml Alkohol verdünnt und bei 520 und 470 mμ colorimetriert. Die Temperatur und Zeit des Erwärmens ist wesentlich, da die Reaktion stark temperaturabhängig ist, wie in besonderen Versuchen gezeigt wird. Die Berechnung erfolgt nach einem Korrekturdiagramm, welches von Hamburger und Rasch angegeben worden ist, gegen einen Leerwert der Reagenzien. Die Ablesung muß 20 min nach der Verdünnung beendet sein, da die Farbe rasch ausbleicht.

Eine quantitative Analyse der 17-Ketosteroide ist von B. L. Rubin, R. I. Dorfman und G. Pincus[4] entwickelt worden. Androsteron kann von den $1^9(^{11})$-Ketosteroiden durch Papierchromatographie nicht getrennt werden. Die $1^9(^{11})$-ungesättigten Verbindungen können durch Perbenzoesäure zu Epoxyden oxydiert werden, wodurch sie im Chromatogramm von den anderen Ketosteroiden unterschieden werden können. Man benötigt 10 γ Lösung mit ungefähr 100 μg 17-Ketosteroidmischung. Der Harn wird 8 min mit 15%iger Salzsäure hydrolysiert, mit Äther nach G. Pincus[5] extrahiert; nach Trennung mit Girards Reagens wird die mit Digitonin nicht fällbare Fraktion abgetrennt. Der Ketonextrakt wird nach Butt u. Mitarb.[6] erhalten. Die Gesamtmenge der Ketosäuren bestimmt man nach Zimmermann, ausgedrückt als Dehydroisoandrosteron, der Rückstand der Lösung wird bei 90–95° C im Stickstoffstrom eingedampft. Man löst in einer kleinen Menge Benzol, die sich nach der Steroidmenge richtet und trägt davon entsprechende Mengen auf ein besonders präpariertes Filtrierpapier auf. Ein Bogen von 56 × 15 cm wird unten so ausgeschnitten, daß 4 Streifen von 2 cm Breite und 1 Streifen von 1 cm Breite entstehen. Die Streifen selbst werden zu einer Spitze zugeschnitten, die Ansatzstelle ist 7,6 cm vom oberen Rande entfernt. Durch absteigende Chromatographie mit Propylenglykol-Heptan oder Phenylcellosolve-Heptan wird das Chromatogramm entwickelt. Der mittlere Teil der Streifen wird ausgeschnitten,

[1] Acta endocrinol. (Kopenhagen) **1**, 375 (1948).

[2] Acta endocrinol. (Kopenhagen) **14**, 33—46 (1953).

[3] Biochemic. J. **32**, 1312 (1938); vgl. diese Z. **139**, 77 (1953).

[4] J. biol. Chemistry **203**, 629—645 (1953). Worcester Foundation, Shrewsburg, Mass. (USA).

[5] J. clin. Endocrinol. Metabolim **5**, 291 (1945).

[6] Butt, W. R., A. A. Henly and C. J. O. R. Morris: Biochemic. J. **42**, 447 (1948).

nachdem die Steroide nach ZIMMERMANN angefärbt sind. Der Farbstoff wird eluiert und colorimetrisch bestimmt. Zur Bestimmung der ungesättigten Steroide werden Mengen von 100—575 μg Steroide mit 5 mg Perbenzoesäure 4—72 Std im Eisschrank gelassen. Die Äthylacetatlösung wird mit 5 ml 5%igem Hydrogensulfit gewaschen, dann mit 5 ml 5%iger Natriumcarbonatlösung und schließlich 3mal mit Wasser. Das Äthylacetat verdampft man im Dampfstrom unter vermindertem Druck und löst den Rückstand in 10 ml Benzol. In aliquoten Teilen bestimmt man die Gesamtketosteroide, ein anderer Teil wird zur Chromatographie verwendet. In eingehenden Diagrammen wird gezeigt, wie sich die Wanderungsgeschwindigkeit verändert. Im ganzen werden 8 Steroide nebeneinander bestimmt, die im Durchschnitt mit 94% Ausbeute wiedergefunden werden. Über die Charakterisierung der einzelnen Komponenten ist im Original nachzulesen. Die Methode ist auch auf andere Körperflüssigkeiten und Gewebe anwendbar. K. HINSBERG.

Zur Bestimmung von 17-Ketosteroiden beschreibt M. SCHERE[1] eine neue Arbeitsmethode, bei der die Fehler, die durch die Anwesenheit gefärbter, nicht ketonhaltiger Substanzen hervorgerufen werden, ausgeschaltet sind. Der Prozentsatz der Ketonfraktion zur neutralen schwankt zwischen 95 und 39%. — *Arbeitsweise.* 100 ml Urin werden im Vakuumtrockenschrank über Nacht getrocknet. Man fügt 0,5 ml Eisessig und 100 mg des Reagenses nach GIRARD (Hydrazid der Trimethylaminoessigsäure) zu. Man verschließt den Kolben mit einem Wattestopfen und läßt ihn 20 min in einem Wasserbad bei 100° C stehen. Dann fügt man etwas eiskaltes Wasser hinzu und gibt alles in einen 100 ml-Scheidetrichter. Der Kolben wird mit insgesamt 15 ml eiskaltem Wasser ausgespült. Man neutralisiert mit 10%iger Na_2CO_3-Lösung und zieht 3mal mit 20 ml Äther aus. Die Ätherfraktionen wäscht man mit 10 ml Wasser aus. Man vereinigt die Wasserfraktionen, in denen sich die Ketonphase befindet, säuert mit 3 ml konz. Salzsäure an, läßt 2 Std ruhen und zieht 3mal mit je 20 ml Äther aus, den man vereinigt. Diese Phase wird mit 2,5%iger Natriumcarbonatlösung und 3mal mit je 10 ml Wasser gewaschen. Der Äther wird abdestilliert, der Rückstand in Alkohol aufgenommen und mit diesem die Reaktion nach ZIMMERMANN durchgeführt. IRMGARD SCHWEITZER.

A. G. GORNALL und M. P. MACDONALD[2] geben *Methoden zur Isolierung von Ketosteroiden aus Urin, Blut oder Gewebe* und zur Durchführung der Reaktion mit 2,4-Dinitrophenylhydrazin an. Ein Optimum der Farbreaktion wird erreicht, wenn 85—90%iges reinstes Methanol, 1,5 m Salzsäure, 100 mg% 2,4-Dinitrophenylhydrazin (in saurem Methanol) benutzt werden. Die Δ^4-3-Ketone reagieren quantitativ in 5 min bei 20° C, ein Erhitzen auf 59° C über 90 min bewirkt eine vollständige Reaktion der C-20-Ketone mit einer Dioxyacetonseitenkette. Die nach dem Erhitzen entstandene gelbe Farbe schlägt nach Zusatz von Alkalien (0,5 ml einer 4 n Natronlauge) nach Dunkelrot um. Die Messung der Farbe erfolgt im Bereich von 425—500 mμ. Die Spitzen der Absorptionskurven sind abhängig von der Anzahl und der Stellung der Ketogruppen. Die Reaktion mit Dinitrophenylhydrazin ist am stärksten bei Steroiden, die eine Δ^4-3-Keto- und eine 17,21-Dioxy-20-Ketogruppe tragen, so bei Coumpound E, F und S. Weniger deutlich ist sie bei DOC, Compound A und B und Progesteron. Der chemische Vorgang der Reaktion wird diskutiert.

N. C. KLENDSHOJ, M. FELDSTEIN und A. SPRAGUE[3] beschreiben *eine vereinfachte Methode zur Bestimmung der 17-Ketosteroide im Harn.* Sie verwenden statt Alkohol

[1] Rev. Asoc. bioquím. argent. **18**, 147—149 (1953).

[2] J. biol. Chemistry **201**, 279—297 (1953). Univ. Toronto, Tor. (Canada).

[3] J. Clin. Endocrinol. Metabolism **13**, 922—927 (1953). School of Med. und General Hospital, Buffalo, N.Y. (USA).

Methylcellosolve (Äthylenglykolmonoäthyläther), wodurch die Farbe wesentlich beständiger sein soll. *Arbeitsweise.* 10 ml Harn kocht man mit 3 ml konz. Salzsäure 10 min auf dem Wasserbad. Nach dem Abkühlen schüttelt man 15 min mit 10 ml Äthylendichlorid, trennt den Extrakt ab, gibt 20 Plätzchen NaOH zu, schüttelt wieder 15 min, filtriert in ein trockenes Gefäß, entnimmt 2 ml und trocknet bei 100° C. Ein Leerversuch wird mit Wasser durchgeführt. Zu dem trockenen Extrakt gibt man 0,4 ml 1%iges m-Dinitrobenzol in Methylcellosolve und 0,3 ml 4 n methanolische Kalilauge, mischt und läßt 60 min bei Raumtemperatur stehen. Dann verdünnt man mit 5 ml Methylcellosolve und colorimetriert bei 510 mμ. Als Vergleich dienen Standardlösungen mit Dehydroisoandrosteron. Die Farbe ist mindestens 30 min konstant, so daß man mehrere Proben gleichzeitig ansetzen kann.

Die Bestimmung der 17-Ketosteroide im Plasma mit einer modifizierten Zimmermannschen Reaktion hat L. J. Gardner[1] durchgeführt. *Arbeitsvorschrift.* Von normalem Plasma werden 6—10 ml mit 25 ml 10%iger Salzsäure (und Glasperlen) 12 min zum Sieden erhitzt, wobei durch Rühren das Stoßen verhindert werden muß. Nach dem Abkühlen extrahiert man 4mal in einem Zentrifugenglas mit je 25 ml Äther, so daß im ganzen 100 ml Extrakt gewonnen werden. In einem Scheidetrichter wäscht man den Äther 3mal mit je 25 ml 10%iger Natronlauge, dann 3mal mit je 50 ml dest. Wasser bis zur Neutralität gegen Lackmus. Man verdampft den Äther in einem Erlenmeyerkolben, spült die Ränder nochmals mit Äther ab, verdampft wieder, nimmt den Rückstand in 20 ml 70%igem Äthanol auf, wäscht 3mal mit je 15 ml Hexan, verdünnt dann die alkoholische Phase mit 10 ml Wasser, extrahiert 3mal mit 15 ml Chloroform, dampft die Chloroformschicht auf rund 12 ml ein und trägt auf eine Florisilsäule von 10 mm $\varnothing$ und 3 g Substanz (mit 30 ml Chloroform befeuchtet), auf. Sobald die Lösung eingedrungen ist, wäscht man mit 35 ml Chloroform nach, sammelt 47 ml Eluat, dampft zur Trockne, spült die Ränder ab, trocknet wieder und führt die Zimmermann-Reaktion in folgender Weise durch. Die Probe wird in absolutem Alkohol gelöst, mit täglich frisch bereiteter m-Dinitrobenzollösung (1%ig) und 20%ig alkoholischer Kalilauge versetzt und 1 Std bei 30° C gehalten. In gleicher Weise werden ein Leerwert und 2 Standardproben mit 2,0 und 8,0 μg angesetzt, danach wird auf ein gleiches Volumen mit Alkohol aufgefüllt und so schnell als möglich bei 460, 520 und 580 mμ colorimetriert. Die Berechnung erfolgt nach der Formel von W. M. Allen[2]:

$$E = E_{520} - (E_{460} + E_{580})/2.$$

Es zeigt sich, daß gewisse C_{19}-Steroide chromatographisch von Compound F getrennt werden können, und zwar wird bei der Elution mit reinem Chloroform nur Androsteron, Dehydroepiandrosteron und Cholesterin eluiert, Compound F erst, wenn 2—10% Äthanol im Chloroform zugesetzt werden. Die Ausbeuten bei Zusatz von Androsteron schwanken bei Mengen von 2,0—3,5 μg zwischen 85 und 104%. 17-Ketosteroide sind bei Neugeborenen nur in der ersten Lebenswoche nachweisbar. Bei Kindern wurden keine Ketosteroide gefunden. Der Normalwert beträgt für erwachsene Männer 40—130 μg%, für Frauen 25—100 μg%. Bei kongenitaler Nebennierenhyperplasie wurden Werte bis 360 μg% gefunden.

Die Fraktionierung der neutralen Harn-17-Ketosteroide durch Adsorption und Verteilungschromatographie wird von E. R. Cook, S. R. Stitch, A. E. Hall und M. P. Feldman[3] in einer Übersichtsarbeit besprochen. Man hydrolysiert 250 ml Harn mit 37 ml konz. Salzsäure und 50 ml CCl_4 durch 1stündiges Kochen am

[1] J. clin. Endocrinol. Metabolism **13**, 941—947 (1953). State New York Med. School, Syracuse, N.Y. (USA).

[2] J. clin. Endocrinol. Metabolism. **10**, 71 (1950).

[3] Analyst (London) **79**, 24—29 (1954). Mental Hosp., Barrow Gurney, Bristol.

Rückflußkühler, entfernt CCl_4, wiederholt die Extraktion mit weiteren 50 ml CCl_4 2mal und wäscht die vereinigten Extrakte mit 30 ml 2 n Natronlauge, dann mit 30 ml 2 n NaOH (mit Natriumdithionit gesättigt), dann nochmal mit 30 ml 2 n Natronlauge und 3mal mit 30 ml Wasser. Man trocknet über wasserfreiem Natriumsulfat, dampft zur Trockne, trocknet im Vakuum, löst in 10 ml Benzol und bestimmt in dem trockenen Rückstand von je 0,4 ml die Gesamtketosteroide nach Zimmermann in der Modifikation nach N. H. Callow, R. K. Callow und C. W. Emmens[1]. Ein anderer aliquoter Teil, der 1,5—2 mg 17-Ketosteroide enthält, wird nach M. H. Pond[2] chromatographiert und in folgender Weise eluiert: 5mal mit je 10 ml reinstem Benzol, 14mal mit 10 ml Benzol + 0,05% Äthylalkohol, 12mal mit 10 ml Benzol + 0,1% Äthylalkohol, 12mal mit 10 ml Benzol + 0,5% Äthylalkohol, 5mal mit 10 ml Benzol + 1% Äthylalkohol und 1mal mit 10 ml reinem Alkohol. Die Eluate werden zur Trockne verdampft und nach Zimmermann bestimmt. Wie durch Testlösungen bestätigt werden konnte, enthält die Fraktion I von durch die Hydrolyse entstandenen Kunstprodukten 3-β-Chlor-5-androsten-17-on und 3,5-Adrostien-17-on, die Fraktion II 3,5-Cycloandrosten-6-ol-17-on, Fraktion III β-Oxy-17-ketosteroide, Fraktion IV Androsteron, Fraktion V Ätiocholanolen, Fraktion VI 11-Oxyandrosteron, Fraktion VII 11-Oxyätiocholanolon und Fraktion VIII unbekannte Verbindungen. — Die Verteilungschromatographie nach J. K. N. Jones und R. S. Stitch[3] gründet sich auf die Trennung mit Girards-Reagens T, Chromatographie an Kieselsäure und Entwicklung mit einer Mischung von 3% Chloroform in Petroläther, gesättigt mit Nitromethan. Die stationäre Phase besteht aus Nitromethan, die Zusammensetzung der 6 Fraktionen ist ähnlich wie oben. Für die Bestimmung nach Zimmermann wird eine kleine Modifikation angegeben. Beim Vergleich der Methode von M. H. Pond[2] und Dingemanse u. Mitarb.[4, 5] ergeben sich sehr ähnliche Werte in den einzelnen Fraktionen, während die Fraktionen nach Pond und nach Jones und Stitch keine vergleichbaren Werte ergeben. Bei der Säurehydrolyse werden unter verschiedenen Bedingungen die Gesamtketosteroide nicht verändert, wohl aber sind die Hydrolysebedingungen bei einer Fraktionierung der Ketosteroide von wesentlicher Bedeutung. Bei Spaltung mit β-Glucoronidase entstehen zwar keine Kunstprodukte, das Verfahren ist aber sehr langwierig und deshalb wird für die Klinik die Säurehydrolyse weiterhin die Methode der Wahl bleiben. Wird die fraktionierte Ausscheidung von 17-Ketosteroiden über längere Zeit verfolgt, so ergibt sich für ein und denselben Patienten eine bemerkenswerte Konstanz. Die Werte sind aber von Fall zu Fall sehr unterschiedlich.

Eine chemische Methode zur gleichzeitigen Bestimmung von 17-Oxycorticosteroiden und 17-Ketosteroiden im Harn nach Hydrolyse mit β-Glucoronidase werden von E. M. Glenn und D. H. Nelson[6] eingehend beschrieben. Sie beziehen sich dabei zur Bestimmung der 17-Oxycorticosteroide auf die Reaktion von C. C. Porter und R. H. Silber[7] in der Modifikation von D. H. Nelson und L. T. Samuels[8] und zur Be-

[1] Biochem. J. **32**, 1312 (1938); vgl. diese Z. **139**, 77 (1953).

[2] Lancet **1951**, II 906.

[3] Biochem. J. **53**, 679 (1953).

[4] Dingemanse, E., L. G. Huis in 't Veld and B. M. de Laat: J. clin. Endocrinol. Metabolism **6**, 535 (1946).

[5] Dingemanse, E., L. G. Huis in't Veld and S. L. Hartogh-Katz: J. clin. Endocrinol. Metabolism **12**, 66 (1952).

[6] J. clin. Endocrinol. Metabolism **13**, 911—921 (1953). Utah Univ., Salt Lake City, Utah (USA).

[7] J. biol. Chemistry **185**, 201 (1950).

[8] J. clin. Endocrinol. Metabolism **12**, 519 (1952).

stimmung der 17-Ketosteroide auf die Modifikation von N. H. Callow, R. K. Callow und C. W. Emmens[1], der die Zimmermannsche Reaktion zugrunde liegt. *Arbeitsweise.* 30 ml Harn einer 24 Std-Portion versetzt man mit je 2 ml 0,2 m Essigsäure und 0,2 m Natriumacetatlösung, stellt auf p_H 4,5 ein und fügt zu dieser Lösung 25000 E Penicillin und 10000 Fishman-E von β-Glucoronidase zu. Man bebrütet entweder 28 Std bei 37,5 C oder 15 Std bei 47 C. Im letzten Falle erhält man etwas höhere Ausbeuten. Der Reaktionsansatz wird 3mal mit je 15 ml Chloroform am besten in einem Zentrifugenglas extrahiert. Die vereinigten Chloroformextrakte werden 2mal ebenfalls im Zentrifugenglas mit je 5 ml 0,1 n Natronlauge, 1mal mit 5 ml 0,1 n Salzsäure gewaschen und darauf mit 3 g wasserfreiem Natriumsulfat einige Minuten getrocknet. Man filtriert dann in einen Erlenmeyerkolben, indem man das Natriumsulfat mit 10 ml Chloroform extrahiert und dann unterhalb 50° C verdampft. Der trockene Rückstand wird in 5 ml Chloroform gelöst, quantitativ auf eine Florisilsäule gebracht und zuerst mit 25 ml Chloroform, dann mit 25 ml Chloroform, 4%ig an Methanol, eluiert. Die vereinigten Eluate enthalten die gesamten 17-Ketosteroide. Darauf eluiert man mit 45 ml Chloroform, 25%ig an Methanol, wobei die 17-Oxycorticosteroide eluiert werden. Nach dem Verdampfen des Chloroforms löst man letztere in 4 ml absolutem Methanol und führt mit einem aliquoten Teil die Phenylhydrazin-Schwefelsäurereaktion durch. Die Messung erfolgt bei 370, 410 und 450 mμ. Auch die Fraktion der 17-Ketosteroide wird verdampft, in 3 ml absolutem Äthanol gelöst und in aliquoten Teilen bei 520 mμ gemessen. Die Ausbeuten sind von der Glucoronidasemenge und der Incubationszeit abhängig. Bei einem Vergleich mit der Säurehydrolyse zeigt sich, daß mit der fermentativen Methode immer mehr 17-Oxycorticosteroide gefunden werden. Bei Zusatzversuchen erreicht man eine Ausbeute von fast 100%.

Zum Nachweis und zur Bestimmung von Nichtketosteroiden verwendet H. Rosenkrantz[2] ein konzentriertes Antimontrichloridreagens in Nitrobenzol (25 g $SbCl_3$ in 5 ml). In einer Tabelle werden die Farbreaktionen der $SbCl_3$-Steroidkomplexe nach 5 min Erhitzen auf 90 C und die Fluorescenzen von 51 Steroiden mitgeteilt. Im allgemeinen können Steroide mit einer Empfindlichkeit von 1,5 μg/cm^2 in dem nachfolgenden Papierchromatogramm nachgewiesen werden. Auch sich überdeckende Flecken lassen sich durch die Farbreaktion unterscheiden. Bei der Chromatographie mit Toluol-Propylenglykol ist die relative Beweglichkeit der verschiedenen Steroide sehr unterschiedlich. Wird Pregnan-3 α,17 α,20 α-triol 1 gesetzt, so hat z. B. 15-Androsten-3 β,16 α,17 β-triol die Beweglichkeit von 0,01 und Androstan-3 α-ol von 30. Das Verfahren soll dem Zimmermannschen Reagens überlegen sein.

Die Bestimmung der formaldehydabspaltenden Steroide wurde von D. C. Smith und S. L. Tompsett[3] untersucht. Es war schon früher[4] gezeigt worden, daß zugesetztes Desoxycorticosteron und Corticosteron im Harn quantitativ wiedergefunden werden. *Arbeitsweise.* Man löst den Extrakt in 1 ml Äthanol, gibt 5 ml Perjodsäurereagens und 0,5 ml konz. Schwefelsäure zu, verdünnt mit Wasser auf 15 ml und destilliert 9 ml ab. Im Destillat wird der Formaldehyd mit Chromotropsäure bestimmt. Wird bis zur Trockne verdampft und werden die Destillate in Portionen von je 3 ml aufgefangen, so kann man feststellen, daß die Formaldehyd-

[1] Biochemic. J. **32**, 1312 (1938); vgl. diese Z. **139**, 77 (1953).

[2] Arch. Biochem. Biophysics **44**, 1—8 (1953). Worcester Found. Exp. Biol., Shrewsburg, Mass. (USA).

[3] Analyst (London) **79**, 53—54 (1954). North. General Hospital, Edinburgh.

[4] Tompsett, S. L.: J. Clin. Path. **6**, 74 (1953).

abspaltung aus Desoxycorticosteronacetat auch nach 15 ml noch nicht beendet ist. Das gleiche gilt für Harnextrakte. Aus Triolein und β-Carotin werden gegen Ende der Destillation beträchtliche Formaldehydmengen frei. Auch Vitamin A-acetat spaltet unter den Versuchsbedingungen Formaldehyd ab. Aus Desoxycorticosteronacetat ist die Formaldehydausbeute in den ersten 9 ml Destillat 78% der Theorie. Wurden Nicht-Corticosteroide dem Harn zugesetzt und dieser verseift und extrahiert, so konnte keine fehlerhafte Formaldehydbildung nachgewiesen werden.

K. Hinsberg.

Über die Polarographie von direkt reduzierbaren Ketosteroiden [Δ^4-Cholesten-3-on (I), Methyltestosteron (II), Testosteron (III), Progesteron (IV) und Desoxycorticosteron (V)] berichten P. Zuman, J. Tenygl und M. Březina[1] ausführlich. Untersucht wurden in üblicher Anordnung (m = 3,06 mg sec^{-1}, t = 2,35 sec bei 50 cm Hg-Säule): I in 50%iger, II in 10%iger, III (als Propionat) und IV in 20%iger und schließlich V (als Acetat) in 30%iger äthylalkoholischer, nach Britton-Robinson gepufferter Lösung. Die Polarogramme sind stark p_H-abhängig und besitzen deutliche Ähnlichkeiten. Bei II, III und IV z. B. treten stets zwei Stufen auf, deren Höhenverhältnisse von der Konzentration unabhängig, deren Einzelhöhe aber p_H-abhängig, deren Gesamthöhe konstant, in 50%igem Äthanol sogar der Konzentration direkt proportional ist. Beide Stufen dieser Hauptwelle sind durch Dissoziation zu erklären. Im alkalischen Gebiet werden bei allen Steroiden außerdem, wie bei I und V im sauren Bereich und in 50%igem Äthanol. Adsorptionsstufen beobachtet. Bei einem p_H-Wert unter 5 und bei kleinen Äthanolkonzentrationen treten zusätzlich katalytische Wellen auf. — Aus dem polarographischen Verhalten lassen sich auch einige analytische Anwendbarkeiten ableiten: Zur Analyse des Gesamtsteroidgehalts wird die Polarographie in 0,1 n Lithiumhydroxydlösung (p_H 5–6) empfohlen, da die Stufen von I–V dann praktisch gleich groß sind. Die unterschiedliche p_H-Abhängigkeit erlaubt auch die Analyse einiger Steroide nebeneinander: z. B. wird in alkalischer Lösung die dissoziierte Form von I nicht reduziert, stört dann also die Analyse der übrigen Steroide II—V nicht. Die unterschiedlichen und polarographisch bestimmten Dissoziationskonstanten erlauben darüber hinaus in einigen Fällen bestimmte Trennungen bei entsprechender p_H-Wahl: Die Höhe der positiveren Stufe der Hauptwelle, die der undissoziierten Form zuzurechnen ist, gibt dann die Konzentration des Ketosteroids mit der höheren Dissoziationskonstanten an. Zum Beispiel kann so bei einem p_H-Wert von 9,5 V neben III, bei p_H 9,2 V neben II oder auch IV neben II analysiert werden.

K. Cruse.

Eine quantitativ auswertbare Fluorescenzreaktion für die Bestimmung von Corticosteroiden beschreibt M. Finkelstein[2]. Bei der Untersuchung der neutralen Fraktion von Ätherextrakten des Harns auf Oestrogene mit Hilfe ihrer Fluorescenzreaktion wurden weitere fluorescierende Substanzen nach 15 min langer Behandlung mit 85% Phosphorsäure in kochendem Wasserbad gefunden, die aus der Nebennierenrinde stammen. Zum Zweck ihrer quantitativen Bestimmung untersuchte der Verf. zunächst die entstandene bläulichgrüne Fluorescenz von reinem kristallisiertem Corticosteron (I), 17-α-Oxycorticosteron (II) und 11-Desoxycorticosteron (III) (Cortison) und deren Acetaten nach Behandlung mit 85% Phosphorsäure für 5 min im kochenden Wasserbad. Die Intensität der Fluorescenz ist

[1] Collect. czechoslov. chem. Commun. 19, 46—57 (1954). Polarogr. Institut, Tschechoslow. Akad. Wiss., Prag.

[2] Nature (London) 169, 929—930 (1952). Hadassan Med. School, Hebrew Univ. Jerusalem, und Univ. College, Swansea (England).

zwischen 0,1 und 0,5 μg proportional der Konzentration der Steroide und zeigt eine lineare Abhängigkeit von ihr, gemessen mit einem FARRAND-Fluorimeter und Interferenzfiltern (größte Durchlässigkeit primär: 435 mμ, sekundär: 530 mμ). Nur I und II sind durch Fluorescenzreaktion nachweisbar. Ergebnisse neuerer Untersuchungen von NEHER u. WETTSTEIN[1] über die gleiche Fluorescenzreaktion, kombiniert mit Papierchromatographie, werden kritisch besprochen. Es wird gezeigt, daß die von den genannten Autoren beschriebenen, die Fluorescenzreaktion zeigenden Substanzen identisch sein dürften mit den oben beschriebenen der neutralen Fraktion von Harnextrakten (vgl. ZONDEK u. FINKELSTEIN[2]). J. EISENBRAND.

Eine Methode zur Trennung der Corticosteroide an Kieselsäuresäulen geben E. HEFTMANN und D. F. JOHNSON[3] an. Der Vorteil der Methode besteht darin, daß verhältnismäßig große Mengen aus Hormongemischen quantitativ getrennt werden können und daß die Bestimmung kleiner Steroidmengen bei Anwesenheit eines Überschusses anderer Steroide ermöglicht wird. Wasser dient bei der Chromatographie als stationäre Phase, Mischungen von Petroläther und Dichlormethan (in verschiedenem Mischungsverhältnis zur Erzielung unterschiedlicher Polarität des Lösungsmittels) als mobile Phase. Die Eluate werden automatisch aufgefangen (Fraktionssammler von Technicon Chromatography Corp., New York, N.Y.) und zur quantitativen Auswertung im Beckman-Spektrophotometer bei 248 mμ durchgemessen. Genaue Versuchsanordnung und die erzielten Ergebnisse werden eingehend beschrieben. HELGA SCHMIDT (Mannheim).

Die Bestimmung von Corticosteroiden durch Fluorescenzreaktion mit Schwefelsäure in Äthylalkohol beschreibt M. L. SWEAT[4]. Das Maximum der Lichtabsorption des Reaktionsproduktes liegt bei 455—460 mμ für *Corticosteron* und bei 475 mμ für *17-Oxycorticosteron*. Das Maximum der Galvanometerausschläge für die mit Photozelle gemessene Fluorescenzintensität liegt bei 530—550 mμ. Als Lichtquelle wurde eine AH 3 Hanovia-Quecksilberbogenlampe mit Corning Filter 5113 und 4489 (436 mμ) und für die Fluorescenz eine Filterkombination Wratten-Gelatinefilter Nr. 16 und 74 (Schwerpunkt 530—545 mμ) benutzt. *Verfahren.* 1 ml konz. Schwefelsäure wird rasch zu 0,1 ml absoluten Äthylalkohols gegeben, welcher Mengen zwischen 0,005—30 μg 17-Oxycorticosteron enthält und mit einem unten breitgedrückten Glasstab gut durchgerührt. Nach 20 min bringt man ins Fluorimeter (des Beckman-Photometers) und liest die Galvanometerausschläge ab. J. EISENBRAND.

Von R. I. S. BAYLISS und A. W. STEINBECK[5] wird folgende *Modifikation zur Bestimmung der 17-Oxycorticosteroide im Plasma* gegeben. Das durch Heparinzusatz gewonnene Plasma (15 ml) wird 3mal mit gleichen Volumina Chloroform extrahiert und die durch kräftiges Rühren gebildete Emulsion durch Zentrifugieren zerstört. Die vereinigten Chloroformextrakte werden bei 45° C unter vermindertem Druck eingedampft, der Trockenrückstand wird bei 4° C aufgehoben. Die Chromatographie erfolgt an 1,5 g Florisil, welches mit Chloroform eingeschlemmt und unter N_2-Druck soweit zusammengepreßt wird, daß die Durchlaufgeschwindigkeit 63 Tropfen/min beträgt. Danach wird der in Chloroform gelöste Niederschlag auf die Säule gegeben

[1] NEHER, R., u. A. WETTSTEIN: Helv. chim. Acta **34**, 2278 (1951).
[2] ZONDEK, B., u. M. FINKELSTEIN: Nature (London) **168**, 831 (1951).
[3] Analyt. Chemistry **26**, 519—521 (1954). Nat. Inst. Arthritis. Met. Diseases, Nat. Inst. of Health, Bethesda, Md. (USA).
[4] Analyt. Chemistry **26**, 773—776 (1954). Univ. Salt Lake City, Utah. (USA).
[5] Biochemic. J. **54**, 523—527 (1953). Postgraduat. Med. School, London W.

und zuerst mit 35 ml Chloroform, dann mit 25 ml Chloroform – 2% Äthanol, weiter mit 25,5 ml Chloroform, 24,5%ig an Äthanol eluiert. Das letzte Eluat enthält die Corticosteroide. Es wird unter Stickstoff im Vakuum bei 45° C eingedampft, in 0,6 ml Methanol gelöst und zu einem Anteil von 0,2 ml eine Menge von 0,3 ml Phenylhydrazinhydrochloridlösung (reinst, 0,16%ig in 22,8 n Schwefelsäure) zugesetzt. Ein zweiter Teil von 0,2 ml des Extraktes wird mit 0,3 ml reiner Schwefelsäure versetzt, um unspezifisch reagierende Substanzen ausschließen zu können, und ein Leerwert mit reinem Methanol angesetzt. Die Gläser werden lose verschlossen, 1 Std auf 60° C erwärmt und nach dem Abkühlen bei 410 mμ gemessen. Der Leerwert dient als Kontrolle und die Extinktion nach Abzug des Kontrollwertes dient zur Berechnung. Die Ausbeuten schwanken nach den Angaben zwischen 96,5 und 70%. Eine Korrektur durch Messung der Extinktion bei 370 und 450 mμ, wie sie von D. H. Nelson und L. T. Samuels[1] vorgeschlagen wird, halten die Verf. für überflüssig. Es werden aber durchweg höhere Werte als nach Nelson und Samuels gefunden. Die Werte schwanken bei 7 verschiedenen Seren zwischen 10,2 und 30,3 μg%. Die Spezifität soll gut sein für die Dioxy-20-Ketosteroide. Nach den Versuchen wird angenommen, daß $^1/_3$ - $^1/_2$ der im Plasma gefundenen Corticosteroide 17-Corticosteron ist. Der Rest soll aus stärker polaren Verbindungen bestehen.

17-Oxy-11-Dehydrocorticosteron kann mit Anthronreagens bestimmt werden, wie J. J. Holechek und A. R. Collins[2] mitteilen. Die Methode ist für Mengen von 0,5—2 mg/ml Cortison oder Cortisonacetat geeignet. Die durch Reaktion zwischen den Steroiden und Anthron in absolutem Alkohol entstehende Färbung zeigt Absorptionsmaxima bei 415, 480, 590 und 635 mμ. Die Messung erfolgt bei 480 mμ, da bei 415 mμ die Eigenabsorption des Anthrons beträchtlich ist. Das Beersche Gesetz wird erfüllt.

Zur Bestimmung reduzierender Corticoide im Harn wird von I. E. Broadbent, J. P. Newhouse und W. Klyne[3] die Oxydation mit Kaliumcyanoferrat(III) vorgeschlagen. – *Arbeitsweise.* Der 24 Std-Harn wird bei 4° C aufgehoben und, falls es weniger als 1500 ml sind, auf dieses Volumen aufgefüllt. Man stellt den p_H-Wert mittels 33%iger Schwefelsäure auf 1 ein und läßt bei Zimmertemperatur 24 Std verseifen. Die Lipoide werden aus 100 ml filtriertem Harn mit 50 ml bidestilliertem Chloroform extrahiert und zuerst mit 5 ml Wasser, dann 3mal mit je 5 ml 0,1 n Natronlauge und schließlich noch 3mal mit je 5 ml Wasser gewaschen. Das letzte Waschwasser soll neutral sein. Die Waschflüssigkeiten sollen eiskalt sein und werden mit 5 ml Chloroform reextrahiert. Die gesamten Chloroformextrakte verdampft man unterhalb 50° C im Vakuum, löst in 5 ml Äthanol, verdampft dieses wieder, löst zum Schluß in 4 ml Äthanol und entnimmt 2 Portionen zu 1 ml zur Bestimmung. Man gibt je 1 ml 0,18%ige Cyanoferrat(III)-lösung und Phosphatpuffer (21 g K_2HPO_4 und 63,8 g K_3PO_4 auf 1000 ml) zu, erhitzt nach Zusatz von 4 ml Wasser 10 min auf 90—95° C, kühlt dann rasch auf 15—20° C ab, säuert durch 1 ml 20%ige Phosphorsäure an und kann nach Zusatz einer 3%igen KJ-Lösung in 20%iger frisch bereiteter $ZnSO_4$-Lösung das überschüssige Oxydationsmittel mit 0,002 n Thiosulfatlösung titrieren. Ein Leerwert muß entsprechend angesetzt werden. – Die Reduktionskraft von Cortison oder von Desoxycorticosteronacetat ist verschieden. Die Ausbeuten schwanken bei reinen Lösungen zwischen 80 und 87%,

[1] J. clin. Endocrinol. Metabolism **12**, 519 (1952).

[2] Analyt. Chemistry **25**, 991—992 (1953). Nat. Cancer Inst., U.S. Publ. Health Serv. Hosp., Baltimore, Md. (USA).

[3] J. clin. Pathol. **6**, 190—194 (1953). Postgraduate Med. School, London.

bei Harnextrakten zwischen 56 und 69%. Bei der Untersuchung pathologischer Harne werden zum Teil sehr hohe Werte gefunden. Die Normalwerte schwanken zwischen 1 und 3 mg/Tag. K. Hinsberg.

Zur polarographischen Bestimmung von Steroidhormonen in Blutplasma nach vorheriger chromatographischer Trennung haben C. J. O. R. Morris und D. C. Williams[1] ein früher angegebenes Verfahren[2] weiter ausgebaut. Das etwas abgeänderte Verfahren ist folgendes: 20 ml Plasma des mit Heparin versetzten Blutes werden durch langsame Zugabe von 60 ml Äthanol (unter starkem Rühren) und Zentrifugieren von Protein befreit und unter vermindertem Druck bei 30—40° C eingetrocknet. Dann wird die in 20 ml 20%igem Äthanol aufgenommene Substanz 3mal mit je 20 ml Äthylacetat ausgeschüttelt, und die gesammelten Extrakte werden unter den gleichen Bedingungen eingetrocknet. Mit 2 ml 20%igem Äthanol und unter Erwärmen auf 30—40° C wird der Rückstand gelöst, über Nacht bei 10° C gehalten und noch kalt zentrifugiert. Die klare Lösung (und 0,5 ml 20%iger Waschalkohol) wird dann unter vermindertem Druck eingedampft, der Rückstand in 10 ml 50%igem Äthanol gelöst und die Lösung mit 10 ml Tetrachlorkohlenstoff extrahiert. Die Tetrachlorkohlenstoffphase wird abgetrennt und die extrahierte Substanz wiederum unter vermindertem Druck vom Lösungsmittel befreit. — *Zur Chromatographie* werden 4 g Hyflo-Supercel, mit Dichlor-dialkylsilan vorbehandelt, mit 2 ml Leichtpetroleum als stationärer Phase verwendet, die mit 50%igem Äthanol (mit Leichtpetroleum äquilibriert) angerührt werden, woraus dann 4 cm lange, 1 cm breite Säulen gestopft werden wie sie früher[2] beschrieben wurden. Die Substanzprobe wird in 0,5 ml mit Leichtpetroleum äquilibriertem 50%igem Äthanol auf die Säule aufgebracht und unter 30 mm Überdruck mit dem gleichen 50%igen Äthanol eluiert. Die ersten 4 ml Eluat enthalten die Corticosteroide, Lipidreste werden vom Leichtpetroleum festgehalten. Das Eluat wird im Vakuum eingedampft. – Zur Trennung der Steroide wird eine Säule (8 × 0,6 cm) mit 25%igem Äthanol, das mit Toluol äquilibriert ist, als stationärer Phase (2 ml je 3 g Hyflo-Supercel) vorbereitet, die für Toluol als bewegliche Phase eine Durchlaufgeschwindigkeit von 0,8 ml je Stunde besitzen soll. Nach Auflegen einer frischen, trockenen, 2—3 mm starken Hyflo-Supercelschicht (vgl. hierzu[2]) wird die in 0,1 ml stationärer Phase aufgenommene Probe aufgebracht und mit Toluol eluiert. Das Eluat wird (am besten über Nacht) im automatischen Kollektor in 1 ml-Fraktionen aufgefangen. 11-Dehydrocorticosteron, Corticosteron und 11-Desoxy-17-Oxycorticosteron sind in den ersten 4 ml (= Fraktion A) enthalten, der 7. und 8. ml enthält Dehydro-17-Oxycorticosteron, der 10.—11. ml führt 17-Oxycorticosteron. Fraktion A wird im Vakuum zur Trockne eingedampft und in 0,1 ml Toluol auf eine zweite Säule (8 × 0,6 cm) mit Äthylenglykol als stationärer Phase aufgebracht und dort mit Leichtpetroleum in Toluol (1:4) weiter getrennt: In den ersten 4—5 ml verläßt 11-Dehydrocorticosteron die Säule, Corticosteron folgt (11. und 12. ml) und 17-Oxy-11-desoxycorticosteron wird erst mit dem 17.—23. ml eluiert. — Zur quantitativen Bestimmung werden die Proben wieder eingedampft und zur *Polarographie* in Girard-Hydrazone überführt: Trocknen über Phosphorpentoxyd, Zugabe von 0,05 ml einer unmittelbar vor Gebrauch gefertigten Mischung von 0,04 ml 10%iger Auflösung von Girard-T-Reagens in Eisessig mit 2 ml gereinigtem wasserfreiem tert.-Butanol, Erhitzen auf 100° C während genau 2 min, Eindampfen bei weniger als 50° C, Zugeben von 0,2 ml Grundlösung (0,5 n Kaliumchloridlösung, 0,2 n Kalilauge und Wasser im Verhältnis 1:2:1, mit Eisessig auf

[1] Biochemic. J. **54**, 470—475 (1953). London Hospital, London.

[2] Butt, W. R., P. Morris, C. J. O. R. Morris and D. C. Williams: Biochemic. J. **49**, 434 (1951); vgl. diese Z. **137**, 126 (1952/53).

p_H 5,6 gebracht) und 0,2 ml Toluol. Die Steroide sind unter diesen Bedingungen bei üblicher Aufnahme der Stromspannungskurve an folgenden Halbstufenpotentialen kenntlich:

Verbindung	Δ^4-3-Keto-Stufe	20-Keto-Stufe
11-Dehydrocorticosteron	— 1,08	— 1,36
Corticosteron	— 1,09	— 1,37
11-Desoxycorticosteron	— 1,11	— 1,35
11-Desoxy-17-Oxycorticosteron	— 1,15	—
11-Dehydro-17-Oxycorticosteron (Cortison)	— 1,11	
17-Oxycorticosteron	— 1,12	—

Die Polarogramme werden mit Eichaufnahmen verglichen. 5—10 μg Steroide werden auf diese Weise zu über 80% erfaßt. K. Cruse.

Die papierchromatographische Trennung von $C_{19}O_3$-Steroiden wird von G. Arroyave und L. R. Axelrod[1] ausführlich beschrieben. Die Chromatographie wird im Prinzip nach der von R. B. Burton, A. Zaffaroni und E. H. Keutmann[2] beschriebenen Methode durchgeführt. Die Aufteilung des Steroidgemisches erfolgt durch stufenweise Chromatographie, wobei verschiedene Lösungsmittelkombinationen gewählt wurden: 1. Methylenchlorid/Formamid, 2. Cyclohexen/Formamid. 3. Methylcyclohexan/Propylenglykol. — Es wird an mit 2n Essigsäurelösung, Wasser und redestilliertem Methanol gewaschenem Whatman-Papier Nr. 1 chromatographiert. Zur Identifizierung der verschiedenen Steroide werden als Reagenzien und Sprühmittel verwendet: konz. Schwefelsäure, rauchende Schwefelsäure, alkalische m-Dinitrobenzollösung und 2,4-Dinitrophenylhydrazin. Das Original enthält neben genauen Versuchsdaten eine Reihe Abbildungen von Absorptionsspektren der Verbindungen, welche durch Reaktion der Steroide mit dem Nachweisreagenzien entstehen. Aus diesen Absorptionsspektren ergeben sich qualitativ wertvolle Aufschlüsse über die Natur der einzelnen Komponenten des Steroidgemisches.

Helga Schmidt (Mannheim).

Die Papierelektrophorese einiger Hypophysenhormone zu ihrem Nachweis und ihrer ungefähren Bestimmung war Gegenstand einer Untersuchung von K. Macek, M. Queisnerová und J. Hacaperková[3]. Zur Durchführung verwendet man eine aus zwei Kunststoffplatten gebildete feuchte Kammer, zwischen denen sich ein Rähmchen aus Kunststoff befindet. Das Potentialgefälle betrug etwa 7 V/cm, die Elektrophoresedauer 4 Std. Von den Filtrierpapieren bewährte sich am besten Whatman Nr. 2, aber auch Whatman Nr. 1 oder Sch. & Sch. Nr. 2043b. Dem Boratpuffer wurde vor dem Veronalpuffer der Vorzug gegeben. Zum Nachweis wurde Bromphenolblau angewandt. Es ergab sich, daß das Verfahren sich sehr gut zur raschen Trennung einheitlicher Hypophysenhormone, zur Ermittlung ihres Reinheitsgrades und zu ihrer Kennzeichnung eignet. H. Freytag.

Papierelektrophoretische Untersuchungen an Nucleinsäuren führten N. Schümmelfeder und W. Heyer[4] durch. Ribonucleinsäuren verschiedener Herkunft aber auch Desoxyribonucleinsäure zeigen bei p_H 8,6 unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten. Desoxyribonucleinsäure wandert am schnellsten und kann auch so

[1] J. biol. Chemistry **208**, 579—589 (1954). Univ. Rochester, N. Y. (USA).
[2] J. biol. Chemistry **188**, 763 (1951).
[3] Chem. Listy **48**, 627—629 (1954) [Tschechisch]. F.-Inst. Pharm. Biochem., Prag.
[4] Naturwissenschaften **41**, 164—165 (1954). Univ. Münster/Westf.

präparativ von den anderen Nucleinsäuren abgetrennt werden; Die Ribonucleinsäuren weisen je nach Herkunft und bei gleicher Herkunft je nach Aufarbeitungsart unterschiedliche Wanderungsgeschwindigkeiten auf. Bei p_H 8,6 entsteht bei allen Nucleinsäuren eine einzige schmale Front. Demgegenüber kann durch Elektrophorese bei p_H 2,5 bei beiden Nucleinsäuren eine Aufspaltung in drei Fraktionen beobachtet werden, eine reversible Reaktion, denn bei p_H 8,6 wird wieder nur eine einzige Front festgestellt. Die je nach dem p_H-Wert unterschiedlichen Elektropherogramme werden gedeutet als eine im sauren Milieu stattfindende Depolymerisation der Nucleinsäuren, die in annähernd neutralen oder schwach alkalischen Lösungen reversibel ist. GUDE DREPPER.

Für die Trennung der Bestandteile von hydrolysierter Ribonucleinsäure schlägt J.-E. EDSTRÖM[1] eine *ionophoretische Methode* von extrem gesteigerter Empfindlichkeit vor, die die Analyse von 0,2 bis 1 $\times$ 10^{-9} g Ribonucleinsäure ermöglichen soll. — *Arbeitsweise.* Ein Stück Kupferacetatseide („copper silk") wird zur Quellung ihrer Fäden mit Alkali behandelt, und dann in einem hochviscosen (1650 $\times$ Viscosität des Wassers), glycerin- und glucosehaltigen Citratpuffer von p_H 3,6 24 Std lang gebadet. Ein Faden von 1 –2 cm Länge wird auf ein Quarzglas gespannt und mit kleinen Tüpfeln der Citratpufferpaste auf beide Enden befestigt. Darauf wird aus einer Mikropipette mittels eines Mikromanipulators und unter mikroskopischer Kontrolle 0,1 bis 1 $\cdot$ 10^{-3} γ hydrolysierte Ribonucleinsäure langsam auf den Faden gegeben und der Faden in Paraffinöl gebettet. In die Tüpfel der Pufferpaste werden 2 Mikroplatinelektroden eingeführt, an welche ein Strom von 12 Volt/mm gelegt wird. Nach 2 Std ist eine ionophoretische Trennung der vier UV-absorbierenden Bestandteile der Ribonucleinsäure eingetreten, wobei für jede Bestimmung weniger als 1 mm Fadenlänge erforderlich ist. Man bedeckt den Faden mit einem Quarzdeckglas und mikrophotographiert in monochromatischem Licht bei 257 und 275 mμ. Es zeigen sich dunkle Zonen von Adenin, Guanin, Cytidyl- und Uridylsäure, die sich photometrieren und quantitativ auswerten lassen. R. KLOCKMANN.

Nucleinsäuren, Nucleotide, Nucleoside, Purine und Pyrimidine besitzen alle ein ausgeprägtes Lichtabsorptionsvermögen bei etwa 260 mμ und können durch Messung der Extinktion bei dieser Wellenlänge nach K. WALLENFELS und W. CHRISTIAN[2] quantitativ bestimmt werden. Als Strahlenquelle dient eine „Mineral-Light"-Lampe der U. V. Prod. Inc. South Pasadena, eine Hg-Niederdrucklampe, die neben längerwelligem UV-Licht die Linie 253,7 mμ in hoher Intensität ausstrahlt. Zur Ausschaltung des langwelligen UV- und des sichtbaren Lichtes wird ein Schott-Filter UG 5 vorgeschaltet, so daß neben dem Licht von 253,7 mμ nur noch die Wellenlängen 303, 313 und 334 mμ das Filter passieren. Deren Ausschaltung erfolgt durch eine Glasplatte, auf der eine MnO_2-haltige $Zn(SiO_4)_2$-Leuchtstoffschicht aufgetragen ist, die durch die Linie 253,7 mμ sehr stark, durch die anderen Linien dagegen nur zu etwa 1% angeregt wird und das UV-Licht in sichtbares umwandelt. Während das nicht absorbierte UV-Licht durch die Glasplatte und ein zusätzlich eingeschaltetes Farbglasfilter zurückgehalten wird, emittiert die Leuchtstoffschicht die eingestrahlte Linie 253,7 mμ in Form eines starken, sichtbaren Sekundärlichtes. Die quantitative Messung dieses Sekundärlichtes gestattet also die Bestimmung der Intensität des eingestrahlten UV-Lichtes 253,7 mμ (Skizze der Versuchsanordnung im Original). Eine *Adenin*-Eichkurve zeigt, daß die Extinktion zwischen 10% und 90% der Lichtabsorption der Adeninkonzentration proportional ist, daß also bei

[1] Nature (London) **172**, 809 (1953). Med. School, Gothenburg (Schweden).

[2] Angew. Chem. **65**, 459—461 (1953). Lab. Tutzing, C. F. Boehringer & Söhne, GmbH, Mannheim-Waldhof.

Anwendung des beschriebenen Verfahrens kein störendes UV-Licht vorhanden ist. Verf. beschreiben ferner die Bestimmung der Komponenten eines Leberhydrolysates und die analytische Verfolgung einer Chromatographie am Ionenaustauscher.
K. Söllner.

Eine Trennung von Ribonucleinsäure (RNS) und Desoxyribonucleinsäure (DNS) durch Papierelektrophorese hat M. Deimel[1] versucht. 24 Std nach subcutaner Injektion von 1—4 mC Radiophosphor (^{32}P) wurde das Versuchstier (Ratte oder Kaninchen) getötet und die Nucleinsäure durch alkalische oder saure Hydrolyse aus Leber, Milz und Thymusdrüse nach G. Schmidt und S. J. Thannhauser[2], nach W. C. Schneider[3] oder nach M. Ogur und G. Rosen[4] isoliert. Zur Extraktion wurde jedoch nur $^1/_5$ der vorgeschriebenen Mengen an Extraktionsmittel verwendet, um die ^{32}P-Aktivitäten nicht zu sehr abzuschwächen. Trichloressigsäureextrakte wurden mit Wasser verdünnt oder im Vakuum eingeengt. Notfalls wurde Trichloressigsäure, die in größerer Menge die Elektrophorese stört, mit Chloroform entfernt. 0,01 bis 0,03 ml der Extrakte mit 10—30 μg Nucleinsäure wurden auf 40 cm langen, 4 cm breiten Papierstreifen (Schwedisches Papier oder Whatman Nr. 1) in Veronalnatriumpufferlösung (p_H 8,6) bzw. Phosphatpufferlösung (p_H 8) mit 200 V 5—6 Std zwischen Glasplatten der Elektrophorese unterworfen. Durch einen 3 mm-Spalt wurde dann die ^{32}P-Aktivität längs des Papierstreifens mit dem Geiger-Müller-Zählrohr gemessen oder es wurde die RNS- bzw. DNS-Zone (nach Elektrophorese in Phosphatpufferlösung) an der UV-Absorption festgestellt (jeweils 2 Maxima). Die gewonnenen Diagramme lassen sich nach beiden Methoden zur quantitativen Bestimmung nicht verwenden, doch ist in einer Reihe von Versuchen eindrucksvoll demonstriert, welche Mengen sich in den Einzelorganen zu größerem oder kleinerem Gehalt anfinden oder wie z. B. kalte Überchlorsäure nur RNS extrahiert oder auch wie beispielsweise der fermentative Abbau der RNS durch Ribonuclease verläuft. — Legt man die Streifen kurze Zeit in Alkohol, trocknet sie dann, taucht sie 10 min in Methylgrün-Pyroninlösung, entfernt die überschüssige Farbe durch Methanol-Aceton (1:1) und trocknet sie, so erscheint RNS als rot und DNS als blaugrün gefärbte Zone. Allerdings werden die Nucleinsäuren bei der Färbung ziemlich stark ausgewaschen. — DNS wandert im elektrischen Feld 1,4 mal schneller als RNS, und rund doppelt so schnell wie menschliche Albumine.
K. Cruse.

Eine quantitative papierchromatographische Schnellbestimmung der Nucleotide von Gewebe-Ribonucleinsäure beschreiben J. Montreuil und P. Boulanger[5] im Anschluß an eine frühere Veröffentlichung[6]. Die unmittelbar nach dem Töten der Tiere entnommenen Organe werden dreimal in 10%iger Trichloressigsäurelösung homogenisiert, der abgetrennte Rückstand wird nach Waschen mit absolutem Äthanol mit siedendem Äther-Äthanol (je 50 Vol%) entfettet und mit 4—5 ml auf je 1 g Frischorgan 0,5 n Sodalösung 24 Std bei 37 °C hydrolysiert. Nach Ansäuern des Hydrolysates mit konzentrierter Ameisensäure auf p_H 4,5 wird die aus Protein bestehende Fällung durch Zentrifugieren abgetrennt, die abgegossene Lösung mit destilliertem Wasser auf 500 ml ergänzt und langsam über eine Kolonne von 10 bis 15 g *Deacidit* 200 (aktiviert durch Behandlung mit 500 ml einer Mischung gleicher Volumina 0,5 m Na-Formiatlosung und 0,5 m Ameisensäure und Waschen mit 1%iger Ameisensäure) laufen gelassen. Durch Eluieren mit 500 ml 2%iger Ameisen-

[1] Biochem. Z. **325**, 358—365 (1954). T. H. Aachen und Univ. Köln.
[2] J. biol. Chemistry **161**, 83 (1945).
[3] J. biol. Chemistry **161**, 293 (1945).
[4] Arch. Biochem. Biophysics **25**, 262 (1950).
[5] C. r. Acad. Sci. (Paris) **239**, 367—368 (1954).
[6] Boulanger, P., u. J. Montreuil: Biochim. Biophys. Acta **9**, 619 (1952).

saure wird die Adenylsäure (I) und Cytidylsäure (II) enthaltende Fraktion F_1 gewonnen. Die nachfolgende Extraktion des Harzes mit einer mit Wasser auf 500 ml ergänzten Lösung von 12 g Na-formiat und 20 ml Ameisensäure ergibt die Fraktion F_2 mit Uridylsäure (III), Guanylsäure (IV) und Phosphorsäure, die zur Entfernung der Na-Ionen über eine Kolonne von 60 g *Permutit* 50 gegeben wird. F_1 und F_2 werden nun vereinigt, im Vakuum bei 35° C zur Trockne gebracht und der Trockenrückstand in einer gemessenen Menge verdünnter Ammoniaklösung aufgenommen. Nach Zentrifugieren wird die überstehende Lösung papierchromatographiert, wobei als mobile Phase das System Phenol-Isopropanol-Ameisensäure-Wasser (85 : 5 : 10 : 100) verwendet wird. Die Methodik der quantitativen Bestimmung wurde von Verf. früher[1] beschrieben. Sie erhielten aus Pferdeleber die Nucleotide in folgendem Molverhältnis: I : 1,2; II : 1,6; III : 1,2; IV : 1. K. Söllner.

Zur Bestimmung von Desoxyribonucleinsäure (DRN) in Pflanzenextrakten vergleicht M. Holden[2] die Brauchbarkeit von 3 verschiedenen Methoden. Die Diphenylaminmethode von Z. Dische[3] (3 ml Analysenlösung + 6 ml einer 1% Diphenylamin und 2,75 Vol.% konz. Schwefelsäure enthaltenden Lösung in Eisessig 10 min im siedenden Wasserbad erhitzen, dann Absorption des blauen Reaktionsproduktes bei 600 mμ messen) eignet sich im allgemeinen gut für Pflanzenextrakte. Bei ihnen stimmt der Verlauf der Absorptionskurve zwischen 450 und 650 mμ mit der von reiner DRN praktisch überein; nur zwischen 400 und 450 mμ absorbieren Pflanzenextrakte stärker. War mit der Gewinnung der Extrakte eine starkere Hydrolyse von Pektinen verbunden, so kann Galacturonsäure etwas stören, deren Absorptionsmaxima zwar bei 500 und bei 650 mμ liegen, die aber auch bei 600 mμ merklich absorbiert. Sicherheitshalber mißt man daher Pflanzenextrakte nicht bei 600, sondern bei 570 mμ, dem Absorptionsminimum der Galacturonsäure. Weiter läßt sich der Einfluß der Galacturonsaure durch Verminderung der Konzentration der starken Sauren im Reaktionsgemisch abschwächen, ohne die DRN-Farbung zu beeintrachtigen. Bei Pflanzenextrakten, die mit Perchlorsäure gewonnen wurden, läßt man daher die Schwefelsaure im Reagens fort und bringt die Konzentration der Perchlorsaure im Extrakt auf 1 n. Kohlenhydrate und Stickstoffverbindungen aus den Pflanzen storen die Bestimmung nicht. — Die Cystein-Schwefelsauremethode von P. K. Stumpf[4] (1 ml Analysenlösung + 0,1 ml 5%ige Cysteinhydrochloridlösung + 10 ml 70%ige Schwefelsäure 30 min bei Zimmertemperatur stehen lassen und dabei entstandene Gelbrosafärbung bei 400 mμ messen) ergab mit den meisten Pflanzenextrakten Farbungen, die von der mit DRN verschieden waren, was darauf beruht, daß viele Pflanzenextrakte sich mit 70%iger Schwefelsäure auch schon ohne Cystein verfarben. Die Methode ist deshalb für Pflanzenextrakte unbrauchbar. — Das Tryptophan-Perchlorsäurereagens von S. S. Cohen[5] hingegen ergab mit der Diphenylaminmethode leidlich gute Übereinstimmung. Für Pflanzenextrakte erwiesen sich allerdings einige Abänderungen der Originalvorschrift als zweckmaßig, um Verfarbungen bei der hohen Perchlorsäurekonzentration von 30% und Störungen durch Pektin zu vermeiden. *Ausführung.* 1 ml Analysenlösung, 1 ml 1%ige Tryptophanlösung in 0,1 n Natronlauge und 1 ml 60%ige Perchlorsäure erhitzt man in einem mit Schliffstopfen verschlossenen Reagensglas 20 min im siedenden Wasserbad, kühlt in Eiswasser, verdünnt mit

[1] Boulanger, P., u. J. Montreuil: Bull. Soc. Chim. biol. **33**, 784, 791 (1951).
[2] Analyst (London) **78**, 542—550 (1953). Rothamsted Exper. Stat., Harpenden, Herts. (England).
[3] Mikrochemie **8**, 4 (1930).
[4] J. biol. Chemistry **169**, 367 (1947).
[5] J. biol. Chemistry **156**, 191 (1944).

6 ml 20%iger Perchlorsäure und mißt (ohne wie in der Originalvorschrift angegeben mit Isoamylalkohol auszuschütteln) die Absorption bei 500 mμ. F. Neumann.

Eine für klinische Zwecke geeignete Methode zur spektralphotometrischen Bestimmung von Kohlenoxydhämoglobin im Blut beschreiben E. J. van Kampen und H. Klouwen[1]. — *Arbeitsweise.* Man verdünnt 0,1 ml Blut mit 20 ml 0,1%igem Ammoniak, zentrifugiert die Lösung nach erfolgter Hämolyse 10 min und versetzt 10 ml des klaren Anteiles zur Reduktion des Oxyhämoglobins mit 25 mg Natriumdithionit. Die Extinktion der so erhaltenen Lösungen wird innerhalb 10 min mit einem Beckman-Spektralphotometer, Modell DU, bei 540 mμ und 579 mμ, einer Spaltbreite von 0,025 mm und unter Verwendung von 1 cm-Küvetten gemessen. Aus dem Verhältnis der beiden Extinktionswerte ergibt sich an Hand einer entsprechend vorbereiteten Eichkurve der Gehalt des Blutes an Kohlenoxydhämoglobin. Für die Eichung des Verfahrens wird eine CO-freie Lösung, wie oben beschrieben, hergestellt und in einem Teil das gesamte Hämoglobin durch Einleiten von Leuchtgas in Kohlenoxydhämoglobin umgesetzt. Nach Messung der Extinktionen beider Lösungsteile bei den oben angegebenen Wellenlängen läßt sich der Verlauf der Eichkurve errechnen. Die Genauigkeit der Bestimmung wird für Kohlenoxydhämoglobingehalte bis zu 50% mit etwa ± 1% angegeben, die selten vorkommenden höheren Gehalte lassen sich mit einer Genauigkeit von ± 2 bis ± 3% (absolut) bestimmen. — Aus den mitgeteilten Ergebnissen folgt, daß durch Verdünnen des Blutes eine Spaltung des Kohlenoxydhämoglobins in Hämoglobin und Kohlenmonoxyd nicht stattfindet; eine photochemische Spaltung erscheint zweifelhaft. H. Zettler.

Zur Bestimmung von Stickoxydul in Blut verwenden J. S. Hattox, J. M. Saari und A. Faulconer jr.[2] ein *Massenspektrometer.* Da der Peak m/e = 44 durch Kohlendioxyd gestört ist, wird m/e = 30 (NO^+) zur Analyse benutzt. Als innerer Standard dient das Argon der Luft, das in der Atmosphäre immer zu 0,93% enthalten ist. Die zu analysierende Gasprobe wird mit einer bekannten Argonmenge gemischt und im Massenspektrometer untersucht. Man mißt das Verhältnis von m/e = 30 zu m/e = 40 (Ar). Mit Hilfe einer Eichkonstante, die durch Analyse bekannter Mischungen ermittelt wird, ist es möglich die N_2O-Mengen zu berechnen. Der Wert der Eichkonstante ist jedoch nur mit einer Genauigkeit von 15% bestimmbar. Zur Fehlerverringerung wird nach jeder Analyse 5 min ausgepumpt und dann die Luft analysiert. Die dabei gefundene Peakspannung bei m/e = 30 wird dann von dem m/e = 30 Peak der Stickstoffoxydulbestimmung als Störuntergrundwert in Abzug gebracht. Ist gleichzeitig Äthyläther in der Gasmischung vorhanden, so kann er durch Messung bei m/e = 31 gemessen werden[3]. Das Verhältnis von m/e = 31 Peak zu m/e = 30 Peak zu m/e = 30 Peak ist bei Äthyläther konstant, der entsprechende Betrag kann dann von dem m/e = 30-Wert für N_2O in Abzug gebracht werden. — Zur Gewinnung der Gasprobe aus dem Blut werden in einer Injektionsspritze zu 5 ml Blut 10 ml Luft eingesaugt und in einem Thermostaten bei 37° C unter dauernder Rotation innerhalb von etwa 45 min zum Austauschgleichgewicht gebracht. Nach der Gleichgewichtseinstellung wird ein entsprechender Teil der Gasphase zur Analyse verwendet. Die für diese Art der Probengewinnung notwendige Kenntnis der Verteilung von Stickoxydul in Blut wird durch ein ähnliches Verfahren vorher gewonnen. Ein bekanntes Argon-Stickstoffoxydulgemisch

[1] Recueil Trav. chim. Pays-Bas (Amsterdam) **73**, 119—128 (1954). Diaconessenhuis, Groningen (Holland).

[2] Anesthesiology **14**, 584—590 (1953). Mayo Clinic, Rochester, Minn.

[3] Vgl. C. S. Jones, J. M. Saari, R. A. Devloo, A. Faulconer jr., und E. J. Baldes. Anesthesiology **14**, 490 (1953).

wird über Blut gleicherart zum Gleichgewicht gebracht, dann wird ein Teil der Gasphase entnommen und analysiert. Die Verteilung von Argon in Blut wird dabei ähnlich der in Wasser zu 0,034 angenommen. – Die Auswertung von 10 Massenspektrometeranalysen ergab eine mittlere Abweichung von $\pm 2\%$. Der prozentuale Fehler betrug 1%. Die Abweichungen bei der gleichzeitigen Bestimmung von Stickstoffoxydul und Äthyläther lagen in der gleichen Größenordnung. J. Rascu.

Über die Vorbereitung von biologischem Material zur Bestimmung von Spurenmetallen geben G. Middleton und R. E. Stuckey[1] eine kritische Übersicht mit 124 Literaturangaben. Behandelt werden fast ausschließlich solche Methoden, bei denen die organische Substanz vollständig zerstört wird, nämlich „trockene" Verbrennungsverfahren ohne und mit Zusatz von Schwefelsäure, Alkalien und anderen bei verschiedenen Temperaturen (meist 500—550° C und „nasse" Aufschlüsse mit Sauerstoffsäuren des Chlors, mit Schwefelsäure, Salpetersäure und Gemischen dieser Oxydationsmittel. Je nach der Natur des zu untersuchenden Materials (ob es vorwiegend Kohlenhydrate, Eiweiß oder Fett enthält), ist die Eignung der einzelnen Aufschlußmittel von Fall zu Fall verschieden; ein universell brauchbares Aufschlußverfahren gibt es bisher noch nicht. F. Neumann.

Zur Mikrobestimmung von Kupfer in biologischem Material (Blut und Urin) haben D. M. Hubbard und E. C. Spettel[2] die folgende Methode ausgearbeitet. 100 ml Urin (oder 10 g Blut bzw. Gewebssubstanz) werden mit 20 ml konz. Schwefelsäure und 20 ml konz. Salpetersäure bis zur Braunfärbung erhitzt und nach Zugabe von 10 ml konz. Salpetersäure und 5 ml 70%iger Überchlorsäure in der Hitze zu Ende oxydiert bis Schwefelsäuredämpfe aufsteigen. Unter Kühlung werden 100 ml Wasser, 15 ml 40%ige Ammoniumcitratlösung und 50 ml 20%ige Natriumsulfitlösung zugesetzt, es wird gut gerührt und schließlich noch mit 100 ml Ammoniak versetzt. Nach Verdünnen auf 400 ml werden Cu, Bi, Pb, Cd und ein Teil des eventuell vorhandenen Zn 4mal mit je 10 ml Dithizonlösung in Chloroform (60 mg je Liter) je 30 sec durch Schütteln extrahiert (bis zu 100 μg Cu werden hierbei auch neben je 50 μg der anderen Metalle erfaßt). Die vereinigten Extrakte werden 30 sec mit 50 ml Wasser gewaschen, das Waschwasser wird mit 5 ml Chloroform extrahiert, welches man dann zur Hauptmenge des Extrakts zufügt. Anschließend wird zwecks Entfernung von störenden Beimengungen noch 30 sec mit 50 ml einer Lösung gewaschen, die 10 g Kaliumjodid und 6 ml n Salzsäure in 500 ml enthält. Eine eventuelle Jodabscheidung wird mit etwas Natriumsulfitlösung entfernt. Bleibt die Waschlösung nicht sauer gegen Lackmus, so wird nach Zusatz einiger Tropfen n Salzsäure abermals 30 sec geschüttelt. Auch die Waschlösung wird dann mit 5 ml Chloroform nachextrahiert, die zur Probelösung gefügt werden. Die nunmehr nur durch wenig Cd und Bi verunreinigte Kupfer-Dithizonatlösung wird dann 30 sec mit 50 ml 5%iger Schwefelsäure und 5 Tropfen gesättigtem Bromwasser geschüttelt, so daß das Dithizonat zerstört wird. Der wäßrige, kupferhaltige Anteil, der noch durch Schütteln mit Chloroform (2mal mit je 5 ml) von Resten Dithizon befreit wird, wird dann eingedampft und schließlich abgeraucht. Löst man den Rückstand unter Erwärmen mit 3 ml Pufferlösung nach J. F. Reed und R. W. Cummings[3], die aus 10 ml $0{,}05\%$iger Säurefuchsinlösung und 90 ml 0,5 n Natriumcitratlösung hergestellt ist, und entfernt den gelösten Sauerstoff mit Stickstoff (5 min), so kann auf Kupfer polarographiert werden (zwischen —0,1 und —0,5 V; $E_{1/2} = -0{,}35$ V gegen die Quecksilberbodenelektrode;

[1] Analyst (London) **78**, 532–542 (1953). Brit. Drug Houses Ltd., London.
[2] Analyt. Chemistry **25**, 1245—1247 (1953). Univ. Cincinnati, Ohio (USA).
[3] Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **13**, 124 (1941).

15 Tropfen Quecksilber je Minute; 30° C). 0—15 μg Cu werden polarographisch auf $\pm$ 0,2 μg erfaßt. Zur Gesamtanalyse ist die Ausführung von Blindanalysen empfohlen, da das Ergebnis sehr davon abhängt, ob wirklich kupferfreie Reagenzien verwendet werden[1]. K. Cruse.

Eine Methode zur Bestimmung von Kupfer, Blei und Zink in Blutserum und Blutplasma haben G. Kahle und E. Reif[2] angegeben. Es wird dabei empfohlen, jeder Probe vor dem Veraschen eine konstante Menge Cadmium zuzusetzen, um eine rechnerische Kompensation etwa auftretender Substanzverluste (z. B. beim Überspülen) zu ermöglichen. Außerdem ist es zweckmäßig jeweils 10 μg Cu, Pb und Zn zuzufügen, wodurch die Genauigkeit der notwendigen Leerwertbestimmung erhöht wird. — *Arbeitsvorschrift.* 10 ml Serum oder Plasma (Liqueminzusatz), gewonnen durch 2maliges Zentrifugieren des Blutes, versetzt man mit je 10 μg Cu, Pb, Cd, Zn sowie mit 10 ml 65%iger Salpetersäure, 5 ml 70%iger Überchlorsäure und 1 ml Salzsäure (D 1,19). Man erhitzt gleichmäßig bis 10 min nach Auftreten weißer Dämpfe, dampft dann ein, nimmt in 3 ml n Salzsäure auf, engt bis zur Grünfärbung ein, füllt mit tridest. Wasser auf 50 ml auf, kocht 10 min, versetzt mit 2—3 ml n Salzsäure, verdünnt auf 80—100 ml und gibt die Flüssigkeit auf eine „*WofatitKS*"-*Filtersäule* (2 g Wofatit der Korngröße 0,4—0,5 mm; Durchlaufgeschwindigkeit 3 ml/min). Man spült die Säule gründlich mit tridest. Wasser (2mal 20 ml, dann 2mal 30 ml), eluiert mit 50 ml 10%iger Salpetersäure, dampft das Eluat ein, erhitzt den Rückstand 45 min im Muffelofen bei 400° C, löst in 4 ml 35%iger Überchlorsäure, dampft zur Trockne, löst in 3 ml tridest. Wasser, läßt 15 min stehen, zentrifugiert, setzt 0,1 ml 10 mg-%ige Gelatinelösung zu und *polarographiert* nach Entlüftung (10 min) der Lösung. — Man kann die Plasmaprobe auch direkt mit 2—3 ml n Salzsäure versetzen, auf 80—100 ml verdünnen und auf den Austauscher geben. Nach beiden Methoden wurden folgende mittlere Fehlerbreiten festgestellt: Cu $\pm$ 2,6 $\pm$ 2,3%, Pb $\pm$ 1,3 — 1,5%, Zn $\pm$ 2,1 — 3,1%. Der maximale Fehler liegt im Mittel bei 4—5%. — Bei höchster Empfindlichkeit und Polarographieren unter Stickstoff sind noch 1—10 μg bestimmbar. Es wurde ein durch Photozelle gesteuerter Schreiber benutzt. K. Cruse.

Kupfer-, Mangan- und Chlorbestimmungen im Magensaft, die sich genauer durchführen lassen als die bisher angewandten, beschreibt J. U. Romero[3] — *Kupfer.* In einen Kolben mit Glasschliff (Stand- oder Schüttelzylinder) gibt man 1 ml der zu untersuchenden Lösung, die bis 100 μg Cu enthalten kann, gibt Wasser bis zu einem Gesamtvolumen von 20 ml zu, sodann 4 ml 4%ige Pyrophosphatlösung und 5 ml gesättigte Ammoncitratlösung, mischt gut, fügt 3 Tropfen konz. Ammoniak und anschließend 0,5 ml der Reagenslösung (0,5%ige Diäthyldithiocarbaminatlösung) zu. Das Cu-Salz wird mit 10 ml Isoamylalkohol ausgezogen. 6—8 ml der Alkohollösung werden abgezogen, durch Zentrifugieren wird die Emulsion zerstört und dann die Extinktionsmessung bei 420 mμ vorgenommen (braunrote Färbung). — *Mangan.* Zu 1 ml der zu untersuchenden Lösung (20 bis 100 μg Mn) fügt man Wasser bis auf 10 ml, dann gibt man 0,5 ml 20%ige NaCN-Lösung zu, schüttelt gut um und setzt 0,6 ml 40%ige NaOH-Lösung zu. Zum Schluß gibt man zur Mischung 3 Tropfen 4 5%ige Formaldoximlösung. Es tritt eine rotorange Farbe auf, die man bei einer Wellenlänge von 623 mμ mißt. — Der *Chlorgehalt* wird durch Titration mit Quecksilbernitrat unter Anwendung von Diphenylcarbazon als Indicator ermittelt. Irmgard Schweitzer.

[1] Bezüglich der Reinigung siehe auch Bambach, K., und R. E. Burkley, Ind. Engng. Chem., anal. Edit. **14**, 904 (1942).

[2] Biochem. Z. **325**, 380—388 (1954). Rudolf-Virchow-Krankenhaus, Berlin.

[3] Clín. y Lab. **56**, 412—418 (1953). Fac. Med., Zaragoza (Spanien).

Die spektrochemische Analyse von Beryllium in biologischem Gewebe wird von J. Y. Ellenburg und L. E. Owen[1] beschrieben. Das getrocknete Probematerial wird feucht verascht, wieder gelöst und anschließend das Beryllium zusammen mit einem Germaniumzusatz gefällt. Das Germaniumdioxyd-Berylliumoxyd wird mit 4 Teilen Graphitpulver vermengt und Molybdäntrioxyd als Bezugssubstanz zugesetzt. Diese Mischung wird in den ausgebohrten Krater einer Kohleelektrode vom Strock-Typ eingebracht und nach dem Mannkopfschen Glimmschichtverfahren in einer Atmosphäre von 80 Vol% Helium und 20 Vol% Sauerstoff angeregt. Der Elektrodenabstand betrug 2,5 mm und die Stromdichte des Gleichstrombogens 0,7 A mm^2. Die Auswertung erfolgt in der üblichen Weise durch die Linien Be 3131,1 Å Mo 3132,6 Å. Die Berylliumgehalte in Leber lagen in der Großenordnung von 0,005—0,095 μg in 5 g verarbeitetem Gewebe. Die Nachweisgrenze betragt $5 \cdot 10^{-10}$ g, der mittlere Fehler errechnet sich aus den angegebenen Beispielen zu etwa 2—3%. J. van Calker.

Für die flammenphotometrische Bestimmung von Calcium in Serum oder Harn mit Hilfe eines Beckman DU-Spektrophotometers geben D. Winer und D. M. Kuhns[2] folgende *Arbeitsvorschrift*. Man verdünnt 0,1 ml der Probe mit einer Mischung von 70% Aceton, 20% Eisessig und 10% einer 2%igen Steroxlösung (nichtionisiertes Verdünnungs- und Zerstäubungsmittel, Herstellung Aloë Sci. Co., St. Louis, Mo.) auf 5 ml und verstaubt diese Lösung mittels eines Acetylen-Sauerstoffbrenners; gemessen wird die Ca-Linie 422,7 mμ bei 0,025 mm Photometerspaltbreite. — Zur Eichung dient eine Lösung, welche 144 mval Na, 5 mval K, 5 mval Ca, 2 mval Mg und 2,2 mval Phosphor (als Ammoniumdihydrogenphosphat) je Liter enthält; die Eichkurve selbst wird mit Hilfe von 3 synthetischen, durch Auffüllen von 0,8 ml, 1,0 ml bzw. 1,2 ml obiger Stammlösung mit organischem Losungsmittelgemisch auf 50 ml hergestellten Standards ermittelt. Die Resultate der mitgeteilten Belegversuche, welche sich sowohl auf Serum als auch auf Harn beziehen, stimmen befriedigend mit den Ergebnissen der chemischen Untersuchung überein. W. Schuhknecht.

Zur Bestimmung von Zinkspuren neben Proteinen, z. B. in Insulinpräparaten wird von L. Erdey, G. Rády und L. Káplár[3] das Ausschütteln mit Dithizon empfohlen. Das Eiweiß braucht dabei nicht zerstort zu werden. Das Zinkdithizon kann man entweder *photometrisch* oder *maßanalytisch* bestimmen. — *Arbeitsweise.* 1—5 ml des zu untersuchenden Präparates werden in einem 100 ml-Erlenmeyer-Kolben (Glasschliff) mit 2 ml 10%iger Natriumacetatlosung und Dithizonlösung (30 mg in 1—1,5 l CCl_4) im Überschuß (bei der maßanalytischen Bestimmung muß die Menge genau bekannt sein) versetzt und kraftig 3—4 min lang geschüttelt. Da es wegen der Eiweißstoffe leicht zu einer Emulsionsbildung kommt, empfehlen die Verf. mit Tetrachlorkohlenstoff benetzte Filtrierpapierstreifen (2 in Streifen gerissene Rundfilter 11 cm) im Kolben 2 min lang mitzuschütteln, um die wäßrige Schicht vollständig aufzusaugen. Zur photometrischen Bestimmung wird das überschüssige Dithizon durch 2maliges Schütteln mit je 25 ml 0,05%iger Na_2S-Lösung in die wäßrige Schicht übergeführt und die organische Schicht nach dem Auffüllen auf 10 oder 20 ml im Pulfrich-Photometer mit Filter S 53 photometriert.

[1] Arch. ind. Hyg. occupat. Med. 7, 503—507 (1953). Oak Ridge, Tenn. und Lockland, Ohio (USA).

[2] Amer. J. clin. Pathol. 23, 1259—1262 (1953). Walter Reed, Army Med. Center, Washington, D.C (USA).

[3] Acta chim. Acad. Sci. hung. (Budapest) 3, 315—322 (1953). Magyar Kémiai Folyóirat 59, 151—154 (1953). Techn. Univ. Budapest (Ungarn).

Zur maßanalytischen Bestimmung benötigt man eine Dithizonlösung von genau bekanntem Wirkungswert (20 ml sollen 30 μg Zink äquivalent sein), die nach dem Ausschütteln mit einer Zinksulfatstammlösung (Gehalt 1,3 μg Zn^{2+}/ml) titriert wird. Der Zinkgehalt läßt sich aus der Differenz der zugefügten Dithizonmenge und der verbrauchten Zinksulfatlösung berechnen. Man titriert die Dithizonlösung mit Zinksulfat bis zum ersten rosa Stich und benutzt die bei der Titerbestimmung erhaltene Lösung als Vergleichslösung. Der Dithizonumschlag erfolgt von grün über grau nach schwach rosa. J. Koch.

G. Weitzel und A.-M. Fretzdorff[1] schließen *zur Bestimmung von Zink in biologischem Material* zwar in bekannter Weise die Analysenprobe mit Schwefelsäure und Wasserstoffperoxyd oder Salpetersäure auf und extrahieren das Zink mit einer Dithizonlösung in Tetrachlorkohlenstoff, aber sie benutzen die Extraktion nur, um störende Anionen auszuschalten. Sie bestimmen das Zink schließlich polarographisch. Den Vorteil dieser Arbeitsweise sehen die Verf. darin, daß man nicht wie bei der Colorimetrie mehrere wenig haltbare Reagenslösungen zur Tarnung störender anderer Metalle benötigt. Wie Versuche ergaben, können bei Anwesenheit von Ammonium- und Phosphat-Ionen in neutraler oder schwach alkalischer Lösung Zinkverluste durch Bildung von Zinkammoniumphosphat auftreten. Extrahiert man dagegen aus schwach saurer Lösung (p_H 5,5), so erfaßt man praktisch alles Zink. Die polarographische Methode gestattet noch die Bestimmung von 0,2 μg Zn in 1 ml. — *Ausführung.* 0,3—3 g *Gewebe* oder eingetrocknetes Blut, Serum usw. erhitzt man mit 0,5—3 ml konz. Schwefelsäure bis zum Auftreten von Schwefelsäurenebeln und setzt portionsweise 30%iges Wasserstoffperoxyd (bei größeren Einwaagen oder kompakten Organen zuerst Salpetersäure) unter weiterem Erhitzen hinzu, bis der Kolbeninhalt hell bleibt, verdünnt mit 10—20 ml Wasser, fügt 5 ml alkalische Tartratlösung hinzu (240 g Natriumhydroxyd und 300 g Weinsäure in 1 l Wasser) und neutralisiert gegen Methylrot anfangs mit 4 n, zuletzt mit 0,1 n Natronlauge (p_H-Wert am Schluß 5,5). Das Zink extrahiert man mindestens 5 mal mit je 10 ml Dithizonlösung (250 mg in 1 l CCl_4), verdampft das Lösungsmittel und zerstört das Dithizon im Rückstand durch Erhitzen mit 5 ml n Schwefelsäure bis zum Auftreten von weißen Nebeln unter Mitverwendung von Wasserstoffperoxyd. Den Rückstand nimmt man in 1—3 ml schwach alkalischer Tartratlösung auf (500 ml m Dinatriumtartratlösung mit 500 ml gesättigter Natriumsulfatlösung vermischen und mit 0,1 n Natronlauge auf einen p_H-Wert von 7,5–8,5 bringen), stellt den p_H-Wert auf 5,2—5,4 und *polarographiert.* Das Halbwellenpotential für Zink liegt bei —1,40 Volt. — Von *Harn* schließt man 30—50 ml mit 5 ml konz. Schwefelsäure und 15 ml konz. Salpetersäure auf, zuletzt unter Zusatz von Wasserstoffperoxyd, und verfährt weiter wie bei Geweben. F. Neumann.

Quecksilber in biologischem Material bestimmt D. G. Simonsen[2] mit Dithizon auf folgende Weise: 2 ml *Blut*, 5 ml *Urin oder Mageninhalt* oder 2 g feuchtes *Gewebe* erhitzt man mit 2 ml einer Mischung von Salpetersäure und Schwefelsäure (1 : 1) in einem 300 ml-Zweihalsrundkolben, auf dessen einem Hals ein Rückflußkühler sitzt, während der andere (engere, seitliche) Hals vorerst durch einen Schliffstopfen verschlossen bleibt. Solange der Inhalt schäumt, (Glassiedeperlen!) erhitzt man schwach, um zu verhindern, daß mit den abziehenden Gasen Quecksilber verlorengeht, dann steigert man im Verlaufe von 15 min die Temperatur auf 120° C und läßt weitere

[1] Hoppe-Seyler's Z. physiol. Chem. **292**, 212–221 (1953). Max-Planck-Gesellschaft, Göttingen.

[2] Amer. J. clin. Pathol. **23**, 789—797 (1953). Univ. und County Hospital, Los Angeles, Calif. (USA).

15 min bei Höchsttemperatur sieden. Verkohlen des Kolbeninhaltes unterdrückt man durch tropfenweise Zugabe von Salpetersäure durch den Kühler. Dauert das Aufschließen wesentlich länger als 1 Std, so sind Quecksilberverluste unvermeidlich. Ist der Aufschluß beendet, läßt man nach Abkühlen 40 ml Wasser durch den Kühler einlaufen. Nach abermaligem Abkühlen gibt man 2 ml 50%ige wäßrige Hydroxylaminhydrochloridlösung in den Kolben, erhitzt, kocht 1 min unter Rückfluß, kühlt wieder, filtriert, wäscht nach und verdünnt auf 50 ml. In einem Scheidetrichter extrahiert man die Aufschlußlösung mit 2—3 ml Chloroform, das man verwirft. Danach extrahiert man das Quecksilber mit 4 ml einer Chloroformlösung, die in 100 ml 0,7 mg Dithizon enthält (Stammlösung mit 7 mg Dithizon in 100 ml 1:10 mit reinem Chloroform verdünnen). Von der Chloroformschicht mißt man die Extinktion bei 500 mμ, zerlegt den Quecksilber-Dithizonkomplex durch Schütteln mit 5 ml angesäuerter Kaliumjodidlösung (10 g Kaliumjodid in 450 ml Wasser + 5 ml n Salzsäure) und mißt wieder bei 500 mμ. Die Differenz beider Ablesungen ist zwischen 0,2 und 10 μg Hg dem Quecksilbergehalt proportional. Da jedoch durch eine Extraktion nicht alles Hg erfaßt wird, schüttelt man mit frischer Dithizonlösung so oft aus, bis die Differenz der zugehörigen beiden Ablesungen Null oder sogar leicht negativ wird. Die einzelnen Differenzbeträge werden addiert. Zur Eichung der Methode verwendet man Hg-Standarde, die man durch Auflösen von analysenreinem metallischem Quecksilber in Salpetersäure und stufenweises Verdünnen mit Wasser herstellt und mit denen man denselben Arbeitsgang durchführt wie mit den biologischen Materialien. Wichtig ist es, sowohl bei den Hg-Standarden als auch bei Verdünnung von Analysenproben mit über 10 μg Hg das Verhältnis von Aufschlußsäure (2 ml), Hydroxylaminhydrochloridlösung (2 ml) und Wasser (Gesamtvolumen 50 ml) konstant zu halten, damit in der fertigen Mischung der p_H-Wert unter 1 bleibt. Störungen könnten durch Edelmetalle verursacht werden, die aber in biologischem Material praktisch nicht vorkommen. — Das Chloroform reinigt man vor Gebrauch, indem man 2 l 2mal mit je 100 ml konz. Schwefelsäure und 2mal mit je 300 ml Wasser ausschüttelt, mit etwas Calciumoxyd über Nacht stehen läßt, destilliert und mit 1 Vol.-% Alkohol versetzt. F. Neumann.

Die colorimetrische Siliciumbestimmung nach E. J. King[1] läßt sich nach E. J. King, V. Pash und W. Weedon[2] ohne Abtrennung des Eisens und des Phosphats zur Siliciumbestimmung in *Geweben und anderen biologischen Substanzen* verwenden. Man schmelzt in einem 25—50 ml Platintiegel 0,05—0,5 g der Untersuchungssubstanz (Gewebe) je nach dem Siliciumgehalt mit der sechsfachen Gewichtsmenge Soda 2 Std lang, löst die erkaltete Schmelze in warmem Wasser, fügt nach dem Abkühlen 5 ml 0,44%ige KH_2PO_4-Lösung zu, neutralisiert mit 10 n Schwefelsäure auf Kongorotumschlag, gibt 0,2 ml Säure im Überschuß zu und füllt im 250 ml-Meßkolben zur Marke mit Wasser auf. Etwa 15 ml dieser Lösung, die 0,02—0,1 mg SiO_2 enthalten sollen, versetzt man in einem 25 ml-Meßkolben mit 2 ml 5%iger Ammoniummolybdatlösung in n Schwefelsäure und fügt nach 10 min 5 ml 10 n Schwefelsäure und 0,5 ml Aminonaphtholsulfonsäurelösung[1] zu. Nach dem Auffüllen zur Marke wartet man 10 min und colorimetriert gegen Wasser. Die Siliciummenge liest man aus einer Eichkurve ab, die man am besten mit einer Standardlösung von Na_2SiF_6 herstellt.

Durch sehr große Mengen Phosphat, welche z. B. *in tierischem Urin* enthalten sind, wird das vorstehende Verfahren gestört, wie E. J. King, B. D. Stacy und W. Weedon[3] berichten. Die Störung besteht darin, daß eine Fällung als Ammonium-

[1] Biochemic. J. **33**, 944 (1939).
[2] Biochemic. J. (Proc.) **56**, XLVI (1954). Postgrad. Med. School, London.
[3] Biochemic. J. (Proc.) **56**, XLVI (1954).

phosphormolybdat bei der Methode nach KING, PASH und WEEDON[1] auftritt. Sie kann durch Abtrennung des Phosphats mit Calcium oder Zerstörung des Ammoniaks mit Nitrit sowie Entfernung des Eiweißes mit Trichloressigsäure beseitigt werden. Zur *Phosphatentfernung* behandelt man 0,3 ml Rattenurin bzw. 3 ml menschlichen Urin mit 10 ml 0,5%iger Calciumchloridlösung, die mit Calciumhydroxyd bis auf Rotfärbung von Phenolphthalein gesättigt ist, und verdünnt auf 15 ml. Man schüttelt mit 50 mg Aktivkohle bei 70° C 15 min lang, filtriert nach dem Abkühlen, gibt 10 ml des Filtrates und 2, 5 oder 10 ml einer Standardlösung (31,4 mg Na_2SiF_6 Liter) in einen 25 ml-Meßkolben und colorimetriert nach dem Verfahren von KING, PASH und WEEDON[1]. Zur *Ammoniak- und Harnstoffentfernung* schüttelt man 2 ml Urin mit 1 ml 5%iger Natriumnitritlösung, 2 ml 20%iger Trichloressigsäure, 50 mg Aktivkohle und 1 Tropfen Caprylalkohol 5 min lang, filtriert und kann anschließend wie oben colorimetrieren. K. BRODERSEN.

Zur Mikrobestimmung von Arsen in biologischem Material prüfen K. LINHARDT und I. LAUTERBACH[2] die Testfleckenmethode von P. SEIFERT und R. BROSSMER[3] nach und empfehlen einige Abänderungen. Sie ersetzen z. B. die Gummistopfen und -verbindungen auf und zwischen den einzelnen Gefäßen der Apparatur durch Glasschliffe. — Die Glasflanschen für das Silbernitratpapier durch solche aus V2A-Stahl, die sich leichter maßgetreu herstellen lassen, zu ersetzen, ist dagegen nicht ratsam, weil das Metall Arsenwasserstoff zersetzt und ungenaue Ergebnisse verursacht. — Anstatt mit einer MARIOTTEschen Flasche Luft durch die Apparatur zu saugen, drücken Verf. Stickstoff aus einer Stahlflasche hindurch, um etwaigen Schwefelwasserstoff in der Laboratoriumsluft auszuschließen. — Um nach dem Aufschließen der Analysensubstanz mit Schwefelsäure und Salpetersäure und nach dem Abdampfen des Rückstandes mit Perhydrol Reste von Nitrosylschwefelsäure sicher zu zerstören, kochen die Verf. noch einmal mit etwas Harnstoff ein. — Zur Wasserstoffentwicklung eignet sich am besten kleinkörniges Zincum granulatum. Erwärmen auf 45—60° C beschleunigt die Wasserstoffentwicklung, so daß in 20 min alles Arsen zu Arsenwasserstoff reduziert und ausgetrieben ist. — Als Reagenspapier erwies sich am besten das Filtrierpapier Nr. 589/3 von Schleicher & Schüll, das kurz in 3%ige (besser als 1%ige) Silbernitratlösung getaucht, zwischen Fließpapier abgepreßt und zwischen die Glasflanschen gespannt wird. — Kann statt oder neben Arsen auch Antimon vorhanden sein, dann ersetzt man die wäßrige Silbernitratlösung durch alkoholische Quecksilber(II)-bromidlösung und betupft die damit entstehenden gelben bis rotbraunen Flecken mit Salzsäure; bleiben sie unverändert, so liegt Arsen vor, wogegen Antimonflecken grau werden. Entwickelt man aber den Wasserstoff nicht in saurer, sondern in alkalischer Lösung mit Aluminium oder Devarda-Legierung[4], so bildet nur das Arsen eine Wasserstoffverbindung und kann auf normale Weise mit Silbernitrat nachgewiesen werden. F. NEUMANN.

R. J. EVANS und S. L. BANDEMER[5] verwenden *zur Arsenbestimmung in biologischem Material* das colorimetrische Verfahren von G. R. KINGSLEY und R. R. SCHAFFERT[6] mit der Abänderung, daß die photometrische Messung der Molybdänblaufarbe statt bei 865 mμ bei 840 mμ im Beckman-Spektrophotometer, Modell B,

[1] Vgl. vorst. Referat.

[2] Hoppe-Seyler's Z. **292**, 207—212 (1953). Städt. Krankenhaus Nürnberg.

[3] Arch. exper. Path. u. Pharmakol **214**, 121 (1952); vgl. diese Z. **137**, 320 (1952).

[4] STSCHIGOL, M. B., und N. M. DOUBINSKI: Ann. Chim. analyt. Chim. appl. **3**, **18**, 257 (1936); vgl. diese Z. **109**, 422 (1937).

[5] Analyt. Chemistry **26**, 595—598 (1954). State Coll., East Lansing, Mich. (USA).

[6] Analyt. Chemistry **23**, 914 (1951); vgl. diese Z. **138**, 80 (1953).

erfolgt. Bei der Destillation wird das Arsen nur zu maximal 90% in das Destillat übergeführt. Die Eichkurve muß daher mit Standard-Arsenlösungen unter den bei der Analyse eingehaltenen Bedingungen aufgestellt werden. — *Die Arsenbestimmung in Eiern* wird durchgeführt, indem man die zu untersuchenden Eier homogenisiert, 20 ml des Homogenats in einem mit Filtrierpapier ausgelegten Porzellantiegel mit 6 ml gesättigter Magnesiumnitratlösung versetzt, zur Trockne eindampft und zunächst über einen MÉKER-Brenner und dann über Nacht im Muffelofen bei 600° C glüht. Die Asche wird in verdünnter Salzsäure (175 ml konz. Säure + 280 ml Wasser) gelöst und die Lösung nach KINGSLEY und SCHAFFERT weiterbehandelt. Ähnlich geschieht die *As-Bestimmung in Leber, Haut, Muskelgewebe* u. a. biologischen Materialien. K. BRODERSEN.

Vanadium in biologischem Material bestimmt N. A. TALVITIE[1] colorimetrisch mit 8-Oxychinolin in Chloroformlösung. Frühere Versuche von anderen Forschern mit demselben Reagens waren fehlgeschlagen, weil der dem handelsüblichen Chloroform zur Stabilisierung zugesetzte Alkohol eine rasche Veränderung der Farbe des Komplexes bewirkt und außerdem die durch Eisen verursachte Störung nicht vermieden werden konnte. Verf. beseitigt nun den Alkohol durch 6maliges Ausschütteln des Chloroforms mit je einem Viertel seines Volumens Wasser und entfernt das Eisen durch Extraktion der Chloroformlösung der Chelate mit einer Pufferlösung vom p_H-Wert 9,4: Eisen bleibt dabei im Chloroform, Vanadium geht in die wäßrige Phase und wird nach dem Erniedrigen des p_H-Wertes auf 4,0 wieder in Chloroformlösung überführt, deren Absorption man dann bei 550 mμ mißt. Andere Metalle stören nicht. p_H-Werte zwischen 3,5 und 4,5 (Umschlag von Methylorange) sind für die Chelatbildung am günstigsten. *Ausführung.* Zur Zerstörung der organischen Substanz schließt man Flüssigkeiten und weiches *Gewebe (Urin, Blut, Fleisch)* zweckmäßigerweise auf nassem Wege mit Salpetersäure auf, wobei man am Schluß zur Hydrolyse etwa entstandener, mit Vanadium Komplexe bildender Polyphosphate mit stark verdünnter Salpetersäure eindampft. Feste Substanzen *(Knochen, Nahrungsmittel, Faeces)* läßt man zuerst bei 400° C verkohlen und verascht sie danach bei 700° C. Die Asche löst man entweder in Salpetersäure (z. B. bei Knochen) und hydrolysiert wieder mit stark verdünnter Säure, oder man schmelzt sie mit Soda (1:5) im Platintiegel, löst die Schmelze und filtriert. Die Analysenlösung mit höchstens 50 μg V bringt man in einem Scheidetrichter in Gegenwart von Methylorange mit Ammoniak oder Salpetersäure (oder nach Sodaschmelze mit Schwefelsäure) auf einen p_H-Wert von ungefähr 4 (Orangefärbung), schüttelt 3mal mit je 5 ml 8-Oxychinolinlösung (5 g in 1000 ml Chloroform) jedesmal $2^1/_2$ min durch (bei Blut wegen seines hohen Eisengehaltes mit 10, 5 und 5 ml 1%iger Reagenslösung jeweils 5, $2^1/_2$ und $2^1/_2$ min lang) und läßt die Chloroformschichten in einen zweiten Scheidetrichter ab, in dem sich bereits 50 ml Ammoniakpufferlösung vom p_H-Wert 9,4 befinden (200 ml 4 n Ammoniak + 100 ml 4 n Salpetersäure auf 2 l verdünnt), schüttelt 5 min, verwirft die Chloroformschicht, wäscht die wäßrige Schicht mit 5 ml reinem Chloroform, neutralisiert mit 4 n Salpetersäure (Methylorange), fügt 2 ml Phthalatpufferlösung vom p_H-Wert 4,0 hinzu (12,77 g Kaliumhydrogenphthalat in 250 ml) und extrahiert das Vanadium wieder 2mal mit je 5 ml 0,1%iger Oxychinolinlösung in Chloroform während je $2^1/_2$ min. Von der Mischung der Extrakte mißt man die Absorption bei 550 mμ gegen reine 0,1%ige Oxychinolinlösung in Chloroform. Bei Eichmessungen mit bekannten V-Mengen muß man alle erwähnten Operationen durchführen. Die Fehlergrenze beträgt $\pm$0,3 μg V. F. NEUMANN.

[1] Analyt. Chemistry **25**, 604—607 (1953). Publ. Health Serv., Fed. Sec. Agency, Cincinnati, Ohio (USA).

Zur Fluorbestimmung in Knochen und Zähnen in Mengen von 5—50 μg beschreiben H. D. Cremer und W. Voelker[1] einen Destillationskolben, bei dem jeder tote Raum vermieden ist. Das Zahnmaterial (nicht weniger als 40 mg) wird 5 Std bei 700° C im Muffelofen verascht und dann bei 135° C einer Destillation unterworfen, wobei in Gegenwart von $HClO_4$, Quarzsand und Wasserdampf in 1½ Std das Fluor als H_2SiF_6 überdestilliert werden kann. Im Destillat wird die Menge Fluor durch Abschwächung der Farbe des Eisensalicylatkomplexes gemessen. Bei der Destillation werden Chor-Ionen durch Zugabe von Silbersulfat gebunden. K. Hinsberg.

Die Brombestimmung in Körperflüssigkeiten wird von G. Hunter[2] in der Weise durchgeführt, daß der Extrakt mit einer bestimmten Menge NaOCl oxydiert und nach Reduktion des Überschusses das Bromat jodometrisch bestimmt wird. — *Arbeitsvorschrift.* Zu einer Bromlösung, die 50—350 μg Brom enthält, gibt man 5 ml Phosphatpuffer (40%ige $NaH_2PO_4 \cdot 2\,H_2O$-Lösung) dann 3 ml Hypochloritlösung (1 n in 0,15 n Natronlauge), kocht 10 min im Wasserbad, setzt dann 1 ml 50%ige Natriumformiatlösung zu, kocht nochmals 5 min und säuert nach dem Abkühlen mit 5 ml 6 n Schwefelsäure an. Dann gibt man 1 ml 20%ige Kaliumjodidlösung zu und titriert sofort mit 0,005 n $Na_2S_2O_3$-Lösung (1 ml ≙ 66,7 μg Brom). Das Volumen der Lösung darf zu Beginn höchstens 10 ml betragen, Änderungen der Laugen- oder Phosphatkonzentration sind ohne Einfluß. Durch 6 ml Hypochloritlösung wird der Leerwert stark vergrößert. Die Ausbeuten zwischen 10 und 320 μg sind sehr gut, doch sinken die Werte beträchtlich, wenn mehr als 90 mg NaCl vorhanden sind. Um *Blut oder Serum* zu veraschen, wird 1 ml mit 4 ml absol. Äthanol gemischt und zentrifugiert. Die überstehende Flüssigkeit wird mit je 1 Tropfen 2 n KOH-Lösung und 2 n K_2CO_3-Lösung versetzt, bei 110° C getrocknet und über dem Bunsenbrenner schwach kurz geglüht. Auf diese Weise treten keine Verluste an Brom auf. Der Veraschungsrückstand wird auf ein bekanntes Volumen aufgefüllt. *Harn* und *Liquor* müssen im allgemeinen nicht der Behandlung mit Alkohol unterworfen werden. Bei der Veraschung von Harn treten leicht Verluste auf. Der Fehler wird im allgemeinen mit ± 1% bei 50 μg Brom angegeben. K. Hinsberg.

Jod. *Über die Jodbestimmung in biologischem Material* gibt G. Morreale-de Castro[3] einen ausführlichen Überblick hinsichtlich des organisch gebundenen Jods in Serum, Urin und der Schilddrüse. Nach eingehender Darlegung der Aufschluß- und Bestimmungsmethoden wird die Methode von A. C. Connor, R. E. Swenson, C. W. Park, E. C. Gangloff, R. Liebermann und M. G. Curtis als die erfolgreichste, durch zahlreiche eigene Untersuchungen bestätigte, angegeben[4].

Irmgard Schweitzer.

Für die Bestimmung des eiweißgebundenen Jods in Rinderblutserum geben G. H. Ellis und G. D. Duncan[5] eine neue Arbeitsvorschrift zur Durchführung des Cer(IV)-Arsenitverfahrens[6]. *Ausführung.* Zu 4 ml des Serums gibt man 32 ml Zinksulfatlösung (12,5 g $ZnSO_4 \cdot 7\,H_2O$ + 125 ml 0,25 n H_2SO_4 in 1 l) und 4mal 1 ml 0,75 n Natronlauge, schüttelt gut durch und zentrifugiert 10 min mit 2000 U/min. Die überstehende Flüssigkeit wird abgegossen, durch 25 ml jodfreies

[1] Biochem. Z. **324**, 89—92 (1953) Univ. Mainz.
[2] Biochemic. J. **54**, 42—45 (1953). Stoke Mandeville Hospital, Aylesburg, Bucks.
[3] Laboratorio (Granada) **9**, 1—23 (1954). Lab. C.S.I.C., Granada (Spanien).
[4] Surgery (St. Louis) **25**, 510 (1949); vgl. diese Z. **130**, 298 (1949/50).
[5] Analyt. Chemistry **25**, 1558—1559 (1953). Deptm. of Agriculture, Ithaca, N.Y.
[6] Vgl. u. a. diese Z. **139**, 72 (1953); **141**, 237 (1954); **142**, 396 (1954).

Wasser ersetzt, die Mischung aufgeschüttelt, wieder zentrifugiert und das Auswaschen 4mal durchgeführt. Dann wird der Rückstand in 5 ml 70%iger Schwefelsäure gelöst, in den Destillierkolben (Abbildung des Apparates im Original) gegeben und mit 25 ml konz. H_2SO_4 nachgespült. Nach Zugabe von 4 ml Chromsäurelösung (300 g CrO_3 in 300 ml H_2O) wird bei 200—220° C oxydiert, wobei die überschüssige Chromsäure wieder zersetzt wird. Wenn die Mischung zu schäumen beginnt, leitet man nach 5 min 10 sec lang einen Luftstrom hindurch, wiederholt dies in Abständen von 1—2 min, bis ein schwacher weißer Rauch bestehen bleibt, und beendet dann das Erhitzen. Nach dem Abkühlen verdünnt man mit 15 ml Wasser, kocht und beendet das Erhitzen wieder wie vorher. Zur Destillation gibt man 1 ml 1%ige Natronlauge und 3 Tropfen 0,1 n Natriumarsenitlösung in das erste und 0,5 ml Natronlauge in das zweite reagensglasähnliche Absorptionsgefäß. Die zu destillierende Flüssigkeit wird mit 15 ml Wasser verdünnt und unter Durchleiten eines gleichbleibenden Luftstromes (1500 ml/min) erhitzt. Bei 80—90° C wird 2mal 1 ml 50%ige Phosphorsäure und 3mal 1 ml einer Lösung von arseniger Säure (2,636 g As_2O_3 + 13,4 ml H_2SO_4 [1,84], in 200 ml) zugegeben. Man destilliert 10 min gerechnet von der zweiten Zugabe der Phosphorsäure und verdünnt die vereinigten Destillate auf 15 ml. Zur colorimetrischen Bestimmung gibt man zu 3 ml des Destillats in einem Colorimetergefäß von 18 mm ⌀ 0,5 ml der Lösung der arsenigen Säure und 0,5 ml NaCl-Lösung (20 g/l) und erwärmt auf 34 ± 0,5° C. Nach 15 min versetzt man mit 0,5 ml einer Cer(IV)-ammoniumsulfatlösung (12,65 g Cer(IV)-ammoniumsulfat + 19,6 ml H_2SO_4 [1,84], in 200 ml). Nach 20 min Reaktionszeit wird colorimetriert (die Verf. verwenden das Evelyn-Colorimeter mit Filter 5543). Die Eichkurve wird aufgestellt mit 0,00, 0,05 und 0,10 µg Jod. — Nach diesem Verfahren wurden mit der beschriebenen Apparatur 96% des Jods gefunden.

G. Denk.

Kobalt. *Die mikrophotometrische Bestimmung im Blutserum und anderen biologischen Substanzen* ist von F. A. Pohl und H. Demmel[1] zu einer klinisch brauchbaren Methode auf der Basis der Nitroso-R-Salzreaktion ausgebaut worden. Eisen und Kupfer liegen in störenden Konzentrationen vor und werden bei p_H 2,5 mit Dithizon und Oxin, anschließend das Kobalt bei p_H 5 mit Natriumdiäthyldithiocarbaminat (NDC) in Chloroform ausgeschüttelt. Die Colorimetrie erfolgt in einem eigens konstruierten Mikrocolorimeter mit Capillarküvetten. Die Bestimmung ist auf ± 5% genau. — *Ausführung.* 10 ml Blutserum werden mit 5 ml Mischsäure (Schwefelsäure : Salzsäure 1 : 1) und 10 ml Überchlorsäure im Quarzkolben erhitzt und die Mineralsäuren nach Zerstörung der organischen Substanz auf dem Sandbad abgeraucht. Man löst den Rückstand in 50 ml 0,1 n Salzsäure, überführt in einen 100 ml-Scheidetrichter, setzt einige Tropfen Thymolblauindicator zu und stellt mit Ammoniak auf p_H 2,5 ein (Vergleichsfarbe). Zur Entfernung des Kupfers schüttelt man mit 10 ml Dithizonlösung (0,02% in Chloroform), anschließend nochmals mit 10 ml Chloroform aus. Nach Zusatz von 1 Tropfen Perhydrol wird das Eisen mit 10 ml Oxinlösung (1%ig in Chloroform) entfernt und nach Abtrennung der Oxinschicht 2—3mal mit je 10 ml Chloroform nachgeschüttelt. In den eingeengten Extrakten können Eisen und Kupfer bestimmt werden. — Zur Lösung im Scheidetrichter kommen 3 ml 10%ige Ammoniumtartratlösung und zur Einstellung auf p_H 5 verdünntes Ammoniak. Nach Zusatz von 5 ml 2%iger, wäßriger NDC-Lösung wird dreimal mit je 10 ml Chloroform extrahiert. Durch Destillation wird auf wenige ml eingeengt und in einem Quarzspitzröhrchen in einem Oberflächenverdampfer zur Trockene verdampft. Der Rückstand wird mit 0,2 ml 10%iger Natriumnitratlösung

[1] Anal. chim. Acta (Amsterdam) **10**, 554—561 (1954). Techn. Hochsch. Graz (Österreich).

0,25 ml Mischsäure und 1 ml Überchlorsäure im Sandbad erhitzt, wobei der Schliffstopfen des Quarzspitzröhrchens verkehrt auf dem Röhrchen sitzt. Nach völliger Entfärbung wird der Stopfen entfernt und die Lösung abgeraucht. Der Trockenrückstand wird mit 0,5 ml 10%iger Natriumacetatlösung und 0,2 ml 0,05%iger Nitroso-R-Salzlösung (0,05%ig) versetzt und zur Farbentwicklung genau 1 min in ein siedendes Wasserbad gesetzt. Man setzt dann 0,2 ml 70%ige Salpetersäure zu, erhitzt erneut 1 min im Wasserbad, kühlt sofort in kaltem Wasser und füllt mit Wasser auf 1 ml auf. Nach dem Zentrifugieren wird die klare Lösung in einer Capillarküvette bei 520 mμ gegen eine Blindlösung gemessen. Der Kobaltgehalt der Reagenzien ist gesondert zu bestimmen. T. Breyhan.

Die spektrophotometrische Kobaltbestimmung in Organextrakten gründen J. Hontoria-García-Ortiz und F. Enríquez-de Salamanca[1] auf die Messung der Blaufärbung des Kobaltrhodanidkomplexes, der aus der wäßrigen Lösung mit Cyclohexan extrahiert wird. Cyclohexan bietet neben geringer Wasserlöslichkeit den Vorteil einer Farbvertiefung des Komplexes. Von störenden Ionen maskiert man Eisen mit Dinatriumhydrogenphosphat und Kupfer mit Kaliumjodid. — *Arbeitsvorschrift.* In der auf 10 ml verdünnten und mit 2 Tropfen konz. Salzsäure versetzten Probelösung, die 5—100 μg Co enthalten soll, löst man nacheinander 0,4 g Na_2HPO_4, einige KJ- und $Na_2S_2O_3$-Kristalle und 0,3 g Ammonium- oder Kaliumrhodanid. Man schüttelt nach Zugabe von 2 g Ammoniumsulfat 1 min intensiv mit 5 ml Cyclohexan, zentrifugiert und photometriert die klare abgezogene Cyclohexanlösung bei 620 mμ. — Die Fehler durch etwa anwesende Proteine fallen nicht ins Gewicht, so daß man auf ihre Fällung mit Phosphorwolframsäure oder ihre Zerstörung mit Persulfat-Silbernitrat verzichten kann. — Die Fehlergrenze beträgt 0,34 μg Co. Die für 6—8 Bestimmungen benötigte Zeit beläuft sich auf 2 Std.
Irmgard Schweitzer.

Über eine spektrographische Methode zur Mineralanalyse von normaler menschlicher Haut und Neoplasma berichten I. L. Smith, N. Kaufman, E. Yeager, T. D. Kinney und F. Hovorka[2]. Das Analysenmaterial wird je nach Eignung trocken oder feucht verascht und in Lösung spektrographisch untersucht. Hierzu dient das Verfahren von C. Feldman[3], bei dem man die Lösung durch eine poröse achsial aufgebohrte Graphitelektrode sickern läßt. (Porous cup-Verfahren.) Zur Anregung dient ein Hochspannungswechselstromfunken mit in Serie liegender Blasfunkenstrecke und einer Kapazität von 0,004 μF und einer Selbstinduktion von 1 mH. Mit Hilfe synthetisch hergestellter Lösungen und Kobalt als Bezugselement werden Eichkurven aufgestellt, nach denen die Auswertung in der üblichen Weise erfolgt. Bei Untersuchungen zum Krebsproblem werden quantitative Bestimmungen von Al, Ca, Cr, Cu, Fe, K, Mg, Na und Zn durchgeführt, wobei sich regelmäßig Unterschiede zwischen Proben von Gesunden und von Kranken ergaben.
J. van Calker.

Zur Bestimmung der gesamten Basen im Serum benutzen J. C. Vanatta und I. Cushing[4] einen Anionenaustauscher in der Jodatform. — *Arbeitsvorschrift. Frisches Serum* wird auf das Hundertfache verdünnt und die Lösung mit 1 Tropfen Caprylalkohol versetzt, um das Schäumen zu verhindern. Wenn das Serum nicht gut gekühlt war, kann das durch bakterielle Einwirkung entstandene Ammoniak zu

[1] Arch. Med. exper. (Madrid) **16**, 247—259 (1953). Inst. Med. exper., Madrid.
[2] Laborat. Invest. **2**, 284—291 (1953). Cleveland City Hospital u. Western Reserve Univ. Cleveland, Ohio. (USA).
[3] Analyt. Chemistry **21**, 1041 (1949); vgl. diese Z. **132**, 357 (1951).
[4] J. biol. Chemistry **208**, 195—204 (1954). Univ. Dallas, Tex. (USA).

hohe Werte verursachen. Die Säule wird, wenn sie neu gefüllt ist oder 12 Std lang nicht benutzt wurde, mit 30 ml 0,0015 m KJO_3-Lösung ausgespült. Dann werden 10 ml der verdünnten Serumlösung durchgeschickt, deren Durchlauf verworfen wird. Nun läßt man 7 ml der Serumlösung durchlaufen und sammelt den Durchlauf. 5 ml davon werden in einen 125 ml-ERLENMEYER-Kolben gebracht und mit etwa 200 mg Natriumjodid und 0,5 ml 0,3 m Phosphorsäure vermischt. Das freigemachte Jod wird mit 0,003 m Natriumthiosulfatlösung und Kartoffelstärke als Indicator titriert. Nach dieser Bestimmung läßt man eine 0,0015 m Natriumchloridstandardlösung durch die Säule laufen und titriert in der eben beschriebenen Weise 5 ml des Durchlaufes. Wenn der Verbrauch an Thiosulfatlösung den theoretischen Wert von 15 ml bis 14,9 ml unter- oder bis 15,4 ml überschreitet, wird die Differenz zum Serumwert addiert bzw. von ihm subtrahiert. Wenn niedrigere Werte als 14,9 ml bzw. höhere als 15,4 ml erhalten werden, dann ist entweder der Austauscher unrichtig präpariert oder das entsalzte Wasser ungenügend rein. 1 ml 0,03 m $Na_2S_2O_3$-Lösung entspricht 10 mval Gesamtbase im Liter der ursprünglichen Probe. Das Verfahren kann auch auf *veraschte Sera* angewendet werden. Hierzu wird 1 ml Serum mit 1 ml 4 n Schwefelsäure mindestens 2 Std lang auf einem Wasserbade behandelt. Die Probe wird dann in einen kalten Muffelofen gebracht. Innerhalb von 2 Std wird dessen Temperatur auf 500—550° C gesteigert und dann 5 Std lang aufrechterhalten, bis der Rückstand weiß ist. Dieser wird in 100 ml entsalztem Wasser gelöst, und diese Lösung wird wie oben beschrieben behandelt. — Zur *colorimetrischen Bestimmung* werden 4 ml des Durchlaufes mit 5 ml Phosphorwolframsäure (20 ml 85%ige Phosphorsäure + 6 g Natriumwolframat je Liter), 5 ml 0,006 m Natriumthiosulfatlösung und 200 mg Natriumjodid versetzt. Das ausgefällte Eiweiß aus dem frischen Serum wird abzentrifugiert. Die Proben und eine gleichzeitig bereitete Lösung aus 0,0015 m Natriumchlorid werden innerhalb von 2 Std bei 420 mμ colorimetriert. Zur Berechnung dient die Formel: (25 Lu/Ls) + 125 = mval Gesamtbasen/l, in der Lu = (2 — log G) für das Serum, Ls = (2 — log G) für die NaCl-Lösung und G die Galvanometerablesung in Prozenten Durchlässigkeit bedeutet. — *Austauscher Ambertile IRA-400* (p. a.) wird sorgfältig mit Kaliumjodatlösung vorbereitet. Auf 200 ml Austauscher werden 9200 ml 5%ige Kaliumjodatlösung gebraucht. — Die Prüfung auf die Jodatkapazität geschieht folgendermaßen. Man füllt eine Säule wie unten beschrieben und wäscht mit 15 ml Wasser aus. Dann wird mit 15 ml 5%iger Natriumchloridlösung gewaschen, deren Durchlauf in einem 100 ml-Meßkolben gesammelt wird. Nun wird mit 15 ml Wasser nachgewaschen, im gleichen Meßkolben aufgefangen, zur Marke aufgefüllt und davon 0,5 ml mit 0,003 m Thiosulfatlösung titriert. mval JO_3^- je ml Harz $= \frac{\text{ml titriert} \times 200}{\text{Harzmenge in ml}} \times 0{,}0005$ mval/l. Wenn der Austauscher nicht eine Kapazität von 1,15 mval oder mehr je ml aufweist, muß er mit mehr Kaliumjodatlösung behandelt und aufs neue geprüft werden. Ist er in Ordnung, so wird er mit destilliertem Wasser solange ausgewaschen, bis 5 ml des Durchlaufes nach Zusatz der oben genannten Reagenzien weniger als 1 ml 0,003 m Thiosulfatlösung verbrauchen. Dann wird die Austauschersäule mit 2 l 0,0015 m Kaliumjodatlösung ausgewaschen und mit dieser Lösung bei Raumtemperatur aufbewahrt. — Für die Bestimmungen wird der Austauscher in ein Glasrohr von 10 cm Länge und 0,5 cm innerem Durchmesser gebracht. Das Glasrohr ist unten mit einem Hahn verschlossen und darüber 2 cm hoch mit Pyrexglaswolle gestopft. Das Rohr wird luftblasenfrei mit 0,0015 m Kaliumjodatlösung gefüllt, und der Austauscher wird 7—8 cm hoch darin eingeschüttet. Eine Füllung reicht für etwa 15 Bestimmungen. — Der *Fehler* schwankt bei den Titrationen zwischen $\pm$ 0,22 und $\pm$ 1,76 mval/l. Er liegt bei den colorimetrischen Bestimmungen in etwa der gleichen Größenordnung. Der Eiweißgehalt des Serums bewirkt eine Herab-

setzung der Werte um etwa 4,8 mval/l. Durch Addition dieses Faktors zum Wert der Bestimmung nach einfacher Verdünnung des Serums wird annähernd derjenige Wert erhalten, der für veraschtes Serum gilt.

Sj. L. Bonting und H. Bloemendal[1] verbesserten das Verfahren von R. D. Polis und J. G. Reinhold[2] *zur Bestimmung der gesamten Basen in Serum, Urin und der Asche von Geweben.* Genaue Ergebnisse sind nur erhältlich, wenn a) Blindbestimmungen zur Prüfung der vollständigen Auswaschung der Säulen, b) Proben mit einer Konzentration an Basen von 0,005—0,01 n und c) eine Durchlaufgeschwindigkeit von 0,8 ml/min angewendet werden. Es wird eine Austauscherschicht (Amberlite IR 105 bzw. IR 120, H-Form) von 140 mm Höhe und 10 mm Durchmesser benutzt. Die Titrationen werden mit 0,02 n Natronlauge in einer 2 ml-Bürette ausgeführt. — *Arbeitsweise.* 0,15 ml Serum werden auf 3 ml verdünnt und diese Lösung durch die Säule filtriert. Waschen mit 5, 10 und 15 ml Wasser, Auffangen in 50 ml-Erlenmeyer-Kolben und Titrieren werden wie üblich vorgenommen (CO_2 auskochen!). Man läßt noch 10 ml Wasser nachlaufen und titriert diese Menge als Blindprobe zur Korrektur. Urin wird erst neutralisiert. Eine Menge, die etwa 30 mval Base entspricht, wird gegen Bromthymolblau mit 0,02 n Natronlauge bzw. Salzsäure neutralisiert (verbrauchte Menge notieren!). Dann wird auf 3 ml verdünnt und wie bei Serum weiter gearbeitet. *Asche von Geweben* (etwa 1 g frisches Gewebe) wird in 4 ml 0,075 n Salzsäure gelöst. Von dieser Lösung werden 0,25 ml mit 0,02 n Natronlauge gegen Bromthymolblau neutralisiert. Nach Verdünnen auf 3 ml wird wie oben weiter gearbeitet. R. Klement.

Collagen in silicotischem Gewebe bestimmt. B. D. Stacy[3] durch Ermittlung seines Oxyprolingehaltes. — *Arbeitsweise.* 100 mg getrocknetes Lungengewebe erhitzt man nach Extraktion mit Äther mit 5 ml Wasser 6 Std im Autoklaven bei 13,6 at Druck; dann ergänzt man mit Wasser auf 10 ml, erwärmt 15 min im Wasserbad, kühlt, füllt wieder auf 10 ml auf, schüttelt, zentrifugiert, filtriert und versetzt 5 ml des Filtrates mit 5 ml 10%iger Trichloressigsäure. 5 ml des nach 1stündigem Stehen gewonnenen Filtrates werden im Vakuum nahezu zur Trockne eingeengt, in 2 ml 6 n Salzsäure aufgenommen und mit 4 ml der Säure in eine Hartglasröhre gespült. Nach 4 Std Erhitzen bei 18,2 atm. Druck wird der Inhalt des Glases mit 6 n Salzsäure auf 10 ml ergänzt, nach Zusatz von Aktivkohle geschüttelt und filtriert. Eine Probe des Filtrates wird mit 6 n Natronlauge neutralisiert und gegebenenfalls mit 6 n NaCl-lösung verdünnt, so daß der Oxyprolingehalt zwischen 5 und 15 μg beträgt. 1 ml dieser Lösung wird mit 1 ml 0,01 m $CuSO_4$-Lösung, 1 ml 2,5 n Natronlauge und 1 ml 6%iger Wasserstoffperoxydlösung 5 min auf 80 $\pm$ 2° C erwärmt und 5 min in Eis gekühlt. Dann werden 4 ml 3 n Schwefelsäure und 2 ml einer 5%igen Lösung von p-Dimethylaminobenzaldehyd in n-Propanol zugesetzt. Nach Mischen, 16 min langem Erwärmen auf 70 $\pm$ 2° C und Kühlen auf Raumtemperatur wird die entstandene Rotfärbung in einem Spekker-Absorptiometer unter Vorschaltung eines Ilford 605-Gelbgrünfilters gemessen. Die Vergleichslösung mit 10 μg Oxyprolin/ml wird, ebenso wie eine Blindprobe, analog behandelt. Der Umrechnungsfaktor von Oxyprolin auf Collagen beträgt 7,46.
K. Söllner.

[1] J. Labor. clin. Med. **41**, 968—972 (1953). Univ. Amsterdam.

[2] J. biol. Chemistry **156**, 231 (1944).

[3] Biochemic. J. Proc. **56**, XLVII—XLVIII (1954) Postgraduate Med. School London.